

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel BERNFELD

Première Thèse

RECHERCHES SUR LES EFFETS DE LIPIDES
INTRODUITS DANS
CERTAINS VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 1^{er} février 1961 devant la Commission d'examen

M. MANGENOT

M^{lle} LE BRETON

M. CAMUS

Président.

} *Examineurs.*

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS Ve

1960

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel BERNFELD

Première Thèse

RECHERCHES SUR LES EFFETS DE LIPIDES
INTRODUITS DANS
CERTAINS VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 1^{er} février 1961 devant la Commission d'examen

M. MANGENOT	<i>Président.</i>
M ^{lle} LE BRETON	} <i>Examineurs.</i>
M. CAMUS	

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS Ve

1960

UNIV
BIBLIOTHECA
FIDEN

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen. J. PÉRÈS.

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	DE CUGNAC	T	Biologie vég. (S. P. C. N.).
De BROGLIE	T	Théories physiques.	M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie-Physique.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	THELLIER	T	Physique du globe.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	L'HÉRITIER	T	Génétique.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	GRIVET	T	Radio-électricité.
BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	PONCIN	T	Mécanique générale.
PLANTEFOL	T	Botanique.	DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des nombres.
GRASSÉ	T	Evolution des êtres organisés.	QUELET	T	Chimie organique.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
WYART	T	Minéralogie.	JUNG	T	Pétrographie.
TEISSIER	T	Zoologie.	TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
MANGENOT	T	Biologie végétale.	WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
P. AUGER	T	Physique quantique et Relativité.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste.
MONNIER	T	Physiologie générale.	VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
PIVETEAU	T	Paléontologie.	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	PRUVOST	T	Géologie.
H. CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	AMIEL	T	Chimie générale.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	HOCART	T	Minéralogie.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.	J.-P. MATHIEU	T	Physique (Orsay).
COULOMB	T	Physique du globe.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P. C. B.).
M ^{lle} COUSIN	T	Biol. animale (S. P. C. N.).	MAY	T	Zoologie (Orsay).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie.
P. DRACH	T	Zoologie.	FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
KASTLER	T	Physique.	GUINIER	T	Physique des solides.
EPHRUSSI	T	Génétique.	JOST	T	Physiologie comparée.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.), Orsay.	FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathématique.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P. C. B.).	SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral.
LUCAS	T	Recherches physiques.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	MALAVARD	T	Aviation.
ARNULF	T	Optique appliquée.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
M. MORAND	T	Enseignement de Physique.	NORMANT	T	Synthèse organique.
SOLLEILLET	T	Physique (P. C. B.).	BENARD	T	Chimie minérale.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
DANJON	T	Astronomie.	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
PETIT	T	Biologie maritime.	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
QUENY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
GALLIEN	T	Embryologie.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
EICHORN	T	Biologie végétale.	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
			CHADEFAUD	T	Botanique.
			M ^{lle} LE BRETON	T	Physiologie générale.
			SALEM	T	Mathématiques générales.

LELONG	T	Mathématiques générales.	ARNOULT	T	Electronique.
DEVILLERS	T	Anat. et Histol. comparées.	CHAPELLE	T	Physique (N. P. C.), Orsay.
EHRESMANN	T	Topologie Algébrique.	DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).
FRANÇON	T	Physique (S. P. C. N.).	DENY	T	Mathématiques (M. G. P.).
GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.
GODEMENT	T	Mathématiques (M. G. P.).	LUCAS (G.).	T	Géologique.
PISOT	T	Techniques mathématiques de la Physique.	ALLARD		Chimie-Physique.
ROCH (E.).	T	Géologie.	BERTHELOT		Physique Nucléaire et Radioactivité.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.	BRICARD		Météorologie et Physique de l'Atmosphère.
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.	Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.	FRIEDEL		Physique des Solides.
LENNUIER	T	Physique (M. G. P.).	M. JULIA		Etude des molécules organiques complexes.
RIZET		Génétique.	LENDER		Biol. Animale (S. P. C. N.), (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.	MAGAT		Physico-chimie des Rayonnements.
M ^{me} TONNELAT	T	Relativité.	Mlle QUINTIN	T	Electrochimie.
DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).	MONOD	T	Chimie du métabolisme.
SOUCHAY	T	Chimie générale.	BENOIT	T	Physiologie animale.
AIGRAIN	T	Electrotechn. générale.	DE POSSEL	T	Analyse numérique.
BRUSSET		Chimie minérale.	CHARLOT	T	Chimie analytique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies.	HAISSINSKI	T	Radiochimie.
M ^{me} CHAIX		Chimie biologique.	LEMÉE	T	Physiologie B. M. P. V.
M ^{me} HUREL-PY		Biologie végétale (P. C. B.).	GUÉRIN	T	Chimie M. P. C.
PIAUX		Chimie (M. P. C.).	CHATELET (M.)		Chimie (S. P. C. N.).
BRUN	T	Mécanique expérimentale des fluides.	JEAN		Physique Nucléaire et Radioactivité.
LEDERER	T	Chimie biologique.	MATTLER		Physique (S. P. C. N.).
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques.	MICHEL (L.)		Physique théorique des hautes énergies.
M ^{me} LELONG	T	Mathématiques (E. N. S.).	RUMPF		Chimie (P. C. B.).
BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).	BERGERARD		Zoologie (Orsay).
COTTE	T	Physique (Orsay).	BERTEIN		Electronique.
DUBOIS (J. E.).	T	Chimie organique.	BOUSSIÈRES		Chimie des Radioéléments.
LAMOTTE		Zoologie (E. N. S.).	Mme COUTURE		Physique (P. C. B.).
MICHEL (A.).	T	Chimie (S. P. C. N.).	ELLENBERGER		Géologie structurale et Géologie appliquée.
OLMER	T	Energétique générale.	FRANC		Biologie animale.
ROUAULT	T	Physique générale.	SCHNELL		Botanique tropicale.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	STOLKOWSKI		Physiologie générale.
BARCHIEWITZ	T	Chimie-Physique.	ACHER		Chimie Biologique (Orsay).
BROSSEL	T	Physique atomique.	BAUDOIN		Biologie animale (P. C. B.).
BUSER		Physiologie comparée.	BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.).
CAMUS		Physiologie vég. (3 ^e cycle).	BLAMONT		Géophysique Ionosphère.
CASTAING		Physique générale.	BOUREAU		Biologie Végétale S. P. C. N. (Orsay).
CURIEN		Minéralogie et Cristallog.	CURIE (D.).		Physique (M. G.).
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay).	DURAND-DELGA		Géologie.
PANNETIER		Chimie (S. P. C. N.).	FRÉON		Chimie (P. C. B.).
POSSOMPES	T	Zoologie.	HELLER		Physiologie végétale.
PULLMANN		Chimie théorique.	TORTRAT		Calcul des Probabilités.
TEILLAC		Physique nucléaire et Radioactivité.	CAILLEUX		Géologie (S. P. C. N.).
TONNELAT		Biologie physico-chimique.	MAGNAN		Physique (M. P. C.).
VILLE	T	Econométrie.	DAUDEL		Mécanique Ondulatoire appliquée à la chimie théorique et à la Physique Nucléaire.
WILLEMART		Chimie (P. C. B.).	Mlle FOURCROY		Biologie Végétale (S.P.C.N.).
DODÉ	T	Chimie (S. P. C. N.), Orsay.			
FREYMANN	T	Physique générale.			
GUINOCHE	T	Biologie végétale (Orsay).			
ROLLET	T	Chimie (P. C. B.).			
Mlle JOSIEN	T	Chimie (P. C. B.).			
CHEVALLEY	T	Géométrie algéb. et théor. des groupes.			

Secrétaire général R. POULLAIN.

Recherches sur les effets de lipides
introduits dans certains végétaux supérieurs

par

Michel BERNFELD

SOMMAIRE

	Pages
Résumés.....	152
INTRODUCTION.....	160
HISTORIQUE.....	164
MATÉRIEL ET TECHNIQUES.....	171

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

PREMIÈRE PARTIE : Effets des lipides sur les tiges	179
Introduction.....	180
Chapitre Premier. — Etude macroscopique des réactions provoquées par les lipides.....	181
Chapitre 2. — Les réactions du parenchyme médullaire.....	187
I. — <i>Pelargonium zonale</i>	187
II. — <i>Ricinus sanguineus</i>	220
III. — <i>Nicotiana tabacum</i> et plantes diverses.....	229
Chapitre 3. — Facteurs conditionnant l'apparition et le développement des tumeurs médullaires chez <i>Pelargonium zonale</i>	232
Chapitre 4. — Les réactions du parenchyme cortical.....	242
Chapitre 5. — Facteurs conditionnant la formation et le développement des hyperplasies corticales de Ricin.....	256
Chapitre 6. — Recherche de la fraction active.....	259

Chapitre 7. — Effets non spécifiques des lipides sur les tissus des tiges...	270
Chapitre 8. — Effets de lipides actifs associés à divers agents.....	274

DEUXIÈME PARTIE : La circulation et la métabolisation des lipides dans les tiges, leur absorption par les racines	279
---	-----

Chapitre Premier. — La circulation des lipides dans les tiges.	281
Chapitre 2. — La métabolisation des lipides introduits dans les tiges.....	286
Chapitre 3. — L'absorption des lipides par les racines.	290
I. — Absorption des lipides. Expérimentation.....	290
II. — Pénétration et trajet des lipides émulsionnés.....	301

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

I. — Résumé des résultats obtenus.	306
II. — Discussion générale.....	308
A. — Néoformations parenchymateuses, cals et tumeurs	309
B. — Pénétration des lipides	322
C. — Nature des facteurs actifs	330
D. -- Conclusions	331

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	333
LÉGENDES DES PLANCHES	342

RÉSUMÉ

Nous avons consacré nos recherches aux effets des lipides d'origine étrangère sur les végétaux supérieurs. Les résultats obtenus ont confirmé certaines notions signalées anciennement par les auteurs et nous ont permis d'établir des faits nouveaux.

Depuis les travaux de SCHMIDT (1891), il était admis que les huiles et graisses d'origine étrangère pénètrent dans les tissus des plantes, s'infiltrant entre les membranes celluloses, les traversent et se fixent dans le cytoplasme.

Utilisant non des plantules, comme SCHMIDT et différents auteurs, mais des plantes adultes, nous avons démontré que certains lipides humains, animaux ou végétaux ont en commun une propriété caractéristique : dans certaines conditions expérimentales ils provoquent la formation de tumeurs médullaires sur les tiges de *Pelargonium zonale* et de *Ricinus sanguineus*, de tumeurs et d'hyperplasies corticales chez cette dernière espèce.

Le fractionnement de ces lipides indique que l'insaponifiable est à l'origine de ces réactions ; les acides gras totaux ou fractionnés sont indifférents ou toxiques. La nature de l'agent actif contenu dans l'insaponifiable total n'a pu être déterminée, mais diverses constatations permettent de penser qu'il s'agit d'un stérol.

Les néoformations obtenues sont très différentes en apparence de celles que provoquent *Agrobacterium tumefaciens*, les régulateurs de croissance et certains herbicides. Tous ces agents déterminent en effet, sur le *Pelargonium* et le *Ricin*, d'intenses proliférations cambiales avec ou sans blessures (*Agr. tumefaciens* dans le premier cas, 2-4 D. dans le second), tandis que les lipides actifs provoquent des phénomènes d'hypertrophie et d'hyperplasie uniquement des cellules parenchymateuses blessées.

Ces proliférations parenchymateuses ont une croissance limitée due à l'inertie du cambium, ainsi qu'à l'épuisement des réserves et d'un certain « potentiel de croissance » de la zone réactionnelle. Elles débutent par une hyperplasie intense des cellules parenchymateuses voisines de la blessure et aboutissent à la constitution d'une masse d'importance variable où les tissus activement recloisonnés sont disposés de manière anarchique. On y distingue, comme dans la plupart des tissus tumoraux, des cellules hypertrophiées, entourées de petites cellules à cytoplasme dense et rapport nucléoplasmique élevé, qui se multiplient rapidement.

Diverses anomalies de la mitose et de la cytodierèse que nous signalons doivent être rattachées davantage à l'état relativement âgé des tissus réactionnels qu'à un effet propre des lipides actifs.

Ces hyperplasies médullaires et corticales ont donc l'aspect de tumeurs bénignes.

Leurs conditions d'apparition, cependant, les rapprochent assez étroitement du crown-gall sur le plan étiologique par la concomitance nécessaire de certains facteurs : la nécessité d'une blessure initiale, de l'apposition du produit actif avant l'achèvement du processus de cicatrisation, l'apport de substances endogènes provenant des sommités caulinaires et des feuilles constituent l'essentiel de cette similitude.

L'étude de la diffusion des lipides et de leur pénétration intracellulaire au cours des phénomènes d'hyperplasie nous a permis de mettre en évidence leur localisation INTRANUCLÉAIRE : ils se fixent dans l'enchyème sous forme de globules libres et sur les éléments chromocentriques. Ils gagnent les chromosomes d'une fine pellicule soudanophile visible à l'occasion des mitoses. Leur passage dans le nucléole est fugace, mais on observe fréquemment un ou plusieurs globules lipidiques dans l'auréole périnucléolaire.

On peut admettre que la pénétration intranucléaire des lipides conduit au niveau des éléments reproducteurs de chaque cellule la fraction active de l'insaponifiable. Elle est nettement facilitée par la blessure qui peut entraîner des modifications de la perméabilité cellulaire dans la zone d'envahissement initial.

Nous avons pu constater par ailleurs d'un point de vue plus général que les huiles et graisses introduites soit directement dans les tiges, soit par les racines de plantules placées dans des émulsions de concentrations variables, circulent dans les végétaux en suivant des voies essentiellement parenchymateuses : les assises les plus internes de l'écorce et les assises externes de la moelle. Selon l'importance de l'envahissement lipidique on trouve en plus ou moins grande quantité des masses soudanophiles dans les vaisseaux où elles se déplacent lentement. Les lipides s'accumulent électivement sur les méristèmes des tiges, pénètrent difficilement dans le tissu libérien et dans les méristèmes radiculaires.

Ces lipides circulant en dehors des régions blessées sont inactifs et stagnent dans le végétal ; leur accumulation excessive sur les méristèmes apicaux et les zones d'élongation entraîne des troubles du développement et diverses malformations apicales. Ils ne semblent pas être métabolisés par les végétaux. Par contre les tissus hyperplasiés paraissent après plusieurs semaines entièrement dépourvus de lipides qui ont pu être utilisés au cours du processus de recloisonnement.

Ces recherches révèlent l'existence de proliférations pathologiques provoquées sur les tiges de végétaux supérieurs par des fractions actives non encore identifiées que véhiculent certains lipides d'origine animale ou végétale. Elles établissent le rôle important que peut jouer dans ces phénomènes la pénétration intranucléaire des lipides d'origine étrangère, les voies de passage que suivent les lipides dans les végétaux et leurs zones électives d'accumulation. Elles suggèrent des possibilités nouvelles d'expérimentation pour de nombreux facteurs liposolubles (vitamines, hormones) et favorisent l'hypothèse d'une rupture d'équilibre cellulaire qui se trouverait à l'origine des processus tumoraux.

SUMMARY

Our aim has been to study the effect of lipids of external origin on higher plants. The results obtained have confirmed certain ideas previously put forward by the authors and have enabled us to establish new facts.

Since the experiments carried out by SCHMIDT in 1891, it has been generally admitted that fats and oils of external origin can penetrate into the tissues of plants, they infiltrate between the cellulose membranes, passing through them, and are deposited in the cytoplasm.

Unlike SCHMIDT and other authors who used plantlets for their experiments, we used adult plants and we were able to demonstrate that certain lipids of human, animal or plant origin have one characteristic property in common : that under certain experimental conditions they can cause medullary tumours in the stems of *Pelargonium zonale* and *Ricinus sanguineus*, and also tumours and hyperplasia of the cortex of the latter species.

The fractionisation of these lipids showed that it was the unsaponifiable fractions that provoked these reactions ; the total or fractionated fatty acids had either no effect or were toxic. It was not possible to determine the nature of the active agent contained in the total unsaponifiable fraction but diverse observations made it possible to infer that it was probably a sterol.

The neoformations obtained were very different in appearance to those caused by *Agrobacterium tumefaciens*, or different agents regulating growth, or certain weed-killers. All these agents do in fact cause intense cambial proliferation in *Pelargonium* and *Ricinus* whether or not there has been production of a wound (*Agr. tumefaciens* in the first case, 2-4 D in the second case) whereas the active agent of lipids provokes hypertrophic or hyperplastic phenomena only in the parenchyma wounded cells.

These proliferations in the parenchyma are of limited growth owing to the inertia of the cambium, and also to the drain on food reserves and to a definite « growth potential » of the reactive zone. They start by intense hyperplasia of the parenchyma cells next to the wound and finally result in the formation of a mass of variable size in which the actively septating tissues are arranged anarchically. As in most tumorous tissues, it was possible to distinguish hypertrophic cells surrounded by small cells which contain dense cytoplasm and have a high nucleoplasm ratio, and which multiply rapidly.

Various anomalies found present during mitosis and cytodiareisis could be more readily attributed to the relative ageing of the reactive tissues rather than to the specific action of the lipids.

Thus, the appearance of these medullary and cortical hyperplasia is that of a benign tumour.

The conditions conducive to their appearance, however, resemble fairly closely those of crown-gall from the etiological point of view by the necessary concomitance of certain factors : the necessity of an initial wound, the accretion of the active agent before the healing process has become completed, and the conveyance of endogenous substances from the tip of a branch or from the leaves, form the main points of comparison.

Experiments carried out on the diffusion of lipids and their intracellular penetration during the different phenomena of hyperplasia have enabled us also to demonstrate their INTRANUCLEAR localisation : they are deposited in the enchylema either in the form of free globules or attached to the chromocentric elements. They cover the chromosomes with a fine film that is readily stained by Sudan and that is easily visible during mitosis. They pass fugitively into the nucleolus, but often one or several globules of lipid may be observed in the perinucleolar region.

It may be concluded that the intranuclear penetration of the lipids brings the active unsaponifiable fraction into contact with the reproductive elements of each cell. This is greatly facilitated by the wound which appears to cause modifications in the permeability of the cell in the region of initial invasion.

Moreover, we were able to make certain observations, of a more general

interest, that fats and oils introduced either directly into the stems, or through the roots of plantlets placed in emulsions of varying concentrations, circulated in these plants essentially via the parenchyma tissues: the innermost layers of the cortex and the outer layers of the pith. Depending on the amount of lipid uptake, deposits, which readily stained with Sudan, were to be found in more or less large quantities in the vessels, where they moved slowly. The lipids accumulated electively in the meristems of the stems, and penetrated with difficulty into the phloem and into the radicular meristems.

These lipids circulating outside the wounded region are inactive and stagnate in the plant; an excessive accumulation in the regions of elongation and in the apical meristems cause disturbances in development and diverse apical malformations. They do not appear to be metabolised by the plant. On the other hand, several weeks later, the hyperplasiated tissues appeared to be completely free of lipids which had probably been used up during the septation process.

These experiments demonstrate the presence of pathological proliferations in the stems of higher plants which have been provoked by the active, as yet unidentified, fractions transported by certain lipids of animal or of plant origin. They also show that the intranuclear penetration of lipids of external origin, the means of entrance of lipids into plants and their elective regions for accumulating, may play an important part in these phenomena. They provide a basis for new research work on a number of liposoluble factors (vitamins, hormones) and go to confirm the hypothesis that the origin of a tumorous process lies in the rupture of the equilibrium of the cell.

RESUMEN

Hemos consagrado nuestras investigaciones a los efectos de los lípidos de origen foráneo sobre los vegetales superiores. Los resultados obtenidos han confirmado ciertas nociones antiguamente señaladas por parte de los autores y nos han permitido establecer ciertos hechos nuevos.

Desde los trabajos de SCHMIDT (1891) se había admitido que los aceites y grasas de origen foráneo penetran en los tejidos de las plantas, se infiltran entre sus membranas celulósicas, las atraviesan y se fijan en el citoplasma.

Procediendo, no como SCHMIDT y otros distintos autores, los cuales han utilizado plantas poco más o menos en estado embrionario, sino mediante plantas adultas, hemos demostrado que ciertos lípidos humanos, animales o vegetales poseen una propiedad característica común: en ciertas condiciones experimentales provocan la formación de tumores medulares en los tallos de *Pelargonium zonale* y de *Ricinus sanguineus*, y de tumores y de hiperplasias corticales en esta última especie.

El fraccionamiento de estos lípidos indica que la insaponificable constituye el origen de semejantes reacciones. Los ácidos grasos totales o fraccionados son indiferentes o tóxicos. La naturaleza del agente activo contenido en la insaponificable no ha podido ser determinada, pero diversas comprobaciones permiten pensar que se trata de un esteroide.

Las neoformaciones obtenidas son muy diferentes en apariencia de aquellas que provocan *Agrobacterium tumefaciens*, los reguladores de crecimiento y ciertos herbicidas. Todos estos agentes determinan, en efecto, en el *Pelargonium* y en la *Ricin* intensas proliferaciones cambiales, con o sin lesiones (*Agr. tumefaciens* en el primer caso, 2-4 D, en el segundo) mientras que los lípidos activos provocan fenómenos de hipertrofia y de hiperplasia únicamente de las células parenquimatosas.

Dichas proliferaciones perenquimatosas tienen un crecimiento limitado debido a la inercia del cámbium, así como al agotamiento de las reservas y de cierto « potencial de crecimiento » de la zona reaccional. Estas proliferaciones comienzan por una hiperplasia intensa de las células perenquimatosas cercanas de la lesión y dan lugar a la constitución de una masa de importancia variable, en la

cual, los tejidos activamente compartimentados quedan dispuestos de manera anárquica. Como ocurre en la mayor parte de los tejidos tumorales, se distinguen ciertas células hipertrofiadas rodeadas de pequeñas células de citoplasma denso y relación nucleoplásmica elevada, que se multiplican rápidamente.

Diversas anomalías de la mitosis y de la citodiéresis que señalamos deben quedar relacionadas con mayor motivo con el estado relativamente avanzado en cuanto a su edad de los tejidos reaccionales, que a un efecto propio de los lípidos activos.

Estas hiperplasias medulares y corticales presentan, pues, el aspecto de tumores benignos.

Sin embargo, sus condiciones de aparición les aproximan de manera bastante estrecha del crown-gall desde el punto de vista etiológico por la concomitancia necesaria de ciertos factores : necesidad de una lesión inicial, aposición del producto activo antes de finalizar el proceso de cicatrización, aportación de sustancias endógenas procedentes de las extremidades caulinares y de las hojas que constituyen la parte primordial de dicha similitud.

El estudio de la difusión de los lípidos y de su penetración intracelular durante el transcurso de los fenómenos de hiperplasia nos ha permitido hacer resaltar su localización INTRANUCLEARIA : los lípidos se fijan en el enquelema bajo forma de glóbulos libres y sobre los elementos cromocéntricos. Los lípidos revisten a los cromosomas con una fina película sudanófila visible con ocasión de las mitosis. Su paso an el nucleolo es fugaz, pero se observan frecuentemente uno o más glóbulos lipídicos en la aureola perinucleolaria.

Puede admitirse que la penetración intranuclearia de los lípidos conduce al nivel de los elementos reproductores de cada célula la fracción activa de la insaponificable. Dicha penetración queda notamente facilitada por la lesión que puede acarrear ciertas modificaciones de la permeabilidad celular en la zona de invasión inicial.

Por otra parte, hemos podido comprobar que, desde un punto de vista general, los aceites y grasas introducidos directamente en los tallos o bien por las raíces de plantas en estado embrionario puestas en emulsiones de concentraciones variables, circulan en los vegetales siguiendo las vías esencialmente parenquimatosas : las hiladas más internas de la corteza y las hiladas internas de la médula. Según la importancia de la invasión lipídica, se encuentran en cantidad mayor o menor, masas sudanófilas en los vasos en los cuales éstas se desplazan lentamente. Los lípidos se acumulan electivamente en los meristemos de los tallos, penetrando difícilmente en el tejido liberiano y en los meristemos radiculares.

Estos lípidos que circulan fuera de las regiones lesionadas son inactivos y se estancan en el vegetal : su acumulación excesiva sobre los meristemas apicales y las zonas de elongación acarrea perturbaciones del desarrollo y distintas malformaciones apicales. Dichos lípidos no parecen quedar metabolizados por los vegetales. Contrariamente, los tejidos hiperplasiados aparecen después de transcurridas varias semanas completamente desprovistos de lípidos, los cuales han podido ser utilizados durante el transcurso del proceso de compartimentación.

Estas investigaciones revelan la existencia de proliferaciones patológicas provocadas en los tallos de vegetales superiores por fracciones activas aún no identificadas, que transportan ciertos lípidos de origen animal o vegetal. Asimismo, estas investigaciones establecen el papel importante que puede desempeñar en estos fenómenos la penetración intranuclearia de los lípidos de origen foráneo, las vías de circulación tomadas por los lípidos en los vegetales y sus zonas electivas de acumulación. Semejantes investigaciones sugieren ciertas nuevas posibilidades de experimentación para un gran número de factores liposolubles (vitaminas, hormonas) y favorecen la hipótesis de una ruptura de equilibrio celular, el cual podría así constituir el origen de los procesos tumorales.

РЕЗЮМЕ

Мы посвятили наши исследования действию липидов постороннего происхождения на высшие растения. Полученные результаты подтвердили некоторые сведения указанные ранее другими авторами и позволили нам установить новые факты.

Со времени работ Шмидта (1891) было принято считать, что масла и жиры постороннего происхождения проникают в ткани растений, инфильтрируются между целлюлёзными мембранами, проходят сквозь них и фиксируются в цитоплазме.

Употребляя не ростки как Шмидт и другие авторы, а взрослые растения мы доказали, что некоторые липиды человека, животных или растений имеют одно общее характерное свойство: в известных экспериментальных условиях они вызывают образование медуллярных опухолей стеблей *Pelargonium zonale* и *Ricinus sanguineus* и опухолей и кортикальных гиперплазий у этого последнего.

Фракционирование этих липидов указывает на то, что неомыленная часть их лежит в основе этих реакций; жирные кислоты вместе взятые или фракционированные или безразличны или имеют токсические свойства. Природа активного агента находящегося в общей неомыленной части не могла быть определена, но некоторые данные позволяют предполагать, что это стерол.

Полученные новообразования по виду весьма отличаются от тех, которые вызываются *Agrobacterium tumefaciens*, регуляторами роста и некоторыми ядами для растений. Все эти агенты действительно вызывают на *Pelargonium* и *Ricinus* камбиальные пролиферации с ранениями и без них / *Ag. tumefaciens* в первом случае, 2-4 D. во втором/, тогда как активные липиды вызывают гипертрофические и гиперпластические явления исключительно в паренхимных клетках.

Эти паренхимные пролиферации ограничены в росте благодаря инерции камбия и также благодаря истощению резервов и некоторого "потенциала роста" реакционной зоны. Они начинаются интенсивной гиперплазией паренхимных клеток по соседству с ранением и приводят к образованию более или менее значительной массы, в которой активно спаянные ткани находятся в анархическом виде. В них можно различить, как в большинстве опухолевых тканей, гипер-

трофированные клетки окруженные маленькими клетками с плотной цитоплазмой и высоким нуклеоплазмическим соотношением; эти клетки быстро размножаются.

Указываемые нами разные аномалии митоза и цитодиереза должны быть более обязаны относительно большому возрасту реакционных тканей, чем собственно действию активных липидов.

Эти медулярные и кортикальные гиперплазии имеют вид незлокачественных опухолей.

Однако, условия их возникновения их близко сопоставляют с 'crown-gall': ем в смысле этиологическом благодаря необходимому стечению некоторых факторов: необходимости первоначального ранения, введения активного продукта до окончания процесса заживания, поступления эндогенных веществ происходящих из корневых верхушек и листьев, все это составляет существенную часть этого сходства.

Изучение диффузии липидов и их междуклеточного проникновения во время явления гиперплазии позволило нам выяснить их МЕЖДУНУКЛЕАРНОЕ местоположение: они фиксируются в энхилеме в виде свободных шариков и на хромоцентрических элементах. Они окружают хромозомы тонкой суданофильной пленкой видимой по случаю митоз. Их переход в нуклеолу неуловим, но все-таки часто можно наблюдать один или несколько шариков липидов в перинуклеарном окружении.

Можно допустить, что интрамолекулярное проникновение липидов приводит на уровне воспроизводительных элементов каждой клетки активную фракцию неомылиемой части. Оно заметно облегчено ранением, которое может вызвать изменения клеточной проницаемости в зоне начального овладевания.

Мы смогли с другой стороны установить с более общей точки зрения, что масла и жиры введенные либо прямо в стебли, либо в корни ростков помещенные в эмульсии различной концентрации, циркулируют в растениях исключительно по паренхимным путям: самым внутренним основам коры и внешним основам сердцевины. В зависимости от значения липидного овладевания можно наблюдать в большем или меньшем количестве суданофильные массы в сосудах, в которых они медленно передвигаются. Липиды накапливаются селективно на меристемах стеблей, с трудом проникают в либерийную ткань и в корневые меристемы.

Эти липиды циркулирующие вне областей ранения неактивны и остаются в растении; их чрезмерное накопление на верхушечных меристемах и в зонах удлинения вызывает расстройство в развитии и разные недостатки верхушечных образований. Повидимому они не метаболизируются растениями. Напротив того, гиперплазированные ткани кажутся после нескольких недель лишенными липидов, которые могли быть использованы в процессе спаивания клеток.

Эти исследования доказывают существование патологических пролифераций вызванных на стеблях высших растений активными но еще не идентифицированными фракциями, которые носят на себе некоторые липиды животного или растительного происхождения. Они устанавливают ту существенную роль каковую могут играть в этих явлениях интрануклеарное проникновение липидов постороннего происхождения, их пути циркуляции в растениях и селективные зоны их накопления. Они открывают новые экспериментальные возможности для многих растворимых в липидах факторов /витамины, гормоны/ и оправдывают гипотезу нарушения клеточного равновесия, что могло бы быть основой опухолевых процессов.

INTRODUCTION

Les recherches dont nous allons faire l'exposé dans ce mémoire s'inscrivent dans le cadre de travaux commencés en 1946 au Laboratoire de Biologie végétale de la Faculté des Sciences de Paris, sous la direction de M. le Pr. MANGENOT, et consacrés aux effets d'extraits de tissus cancéreux d'origine humaine sur les végétaux. Ces travaux avaient pour but d'essayer de provoquer, avec de tels extraits, des réactions spécifiques sur les plantes.

Au moment où nous avons entrepris ces recherches, de nombreux auteurs déjà avaient tenté de prendre des végétaux pour tests d'activité de produits d'origine animale ou humaine.

Presque tous ces travaux avaient porté sur la germination de graines et le développement de plantules.

Sur la Cardamine, LUSTIG et WACHTEL (1939 *a, b* et *c*) constataient l'action inhibitrice d'extraits d'organes variés. La même plante permettait aussi à WACHTEL (1947) de déceler dans le sérum humain un facteur thermostable stimulant la croissance et un facteur thermolabile d'inhibition.

L'idée d'un diagnostic biologique de la grossesse avait amené HOFFMAN (1934) et BAK (1935) à arroser des graines de céréales avec des urines de femmes gestantes. Les résultats furent décevants. En 1937, R. DAVID établissait sur des graines de moutarde blanche et de lin, pour des solutions renfermant 3 à 5 % d'urine, que la toxicité de celle-ci pour les plantes dépend de sa teneur en urée.

La possibilité d'utiliser des hormones animales purifiées devait tenter de nombreux chercheurs et une floraison de travaux vit le jour : des solutions aqueuses de ces hormones étaient ajoutées à la terre ou aux solutions nutritives. CASTAN (1940) consacrait une partie de sa thèse à ce problème et passait en revue les travaux de ses prédécesseurs. Peu de résultats positifs se trouvèrent acquis : pour CHOUARD (1935), la folliculine entraînait une mise à fleur plus précoce et plus fréquente des bourgeons de Reine-Marguerite ; pour CASTAN, la dihydrofolliculine déterminait sur *Lepidium sativum* l'abaissement de la longueur moyenne de l'hypocotyle, et la thyroxine un allongement de la racine.

A. et D. LÖVE publiaient, en 1945, sur « les effets des hormones sexuelles sur les plantes dioïques », un important mémoire suivi d'une abondante bibliographie. Appliquant sur des plantes adultes des hormones sexuelles au moyen de pâtes lanolinées, ils avaient obtenu, avec des oestrogènes de

synthèse, la « féminisation » des pieds mâles de *Melandrium dioecum* et, par des androgènes, la « masculinisation » des pieds femelles.

De notre côté, à l'occasion de recherches faites sur le crown-gall au Centre Anticancéreux de Toulouse (1941-42), nous avons introduit des extraits aqueux de tissus cancéreux humains dans des tiges de *Pelargonium zonale* au-dessus des entrenœuds inoculés avec des cultures atténuées d'*Agrobacterium tumefaciens*. Ces extraits nous avaient paru stimuler dans une certaine mesure la réaction hyperplasique du cambium.

Enfin, plus récemment, NYSTERAKIS (1954) abordait par la technique des cultures de tissus le problème de l'action des extraits embryonnaires de poulets sur les végétaux supérieurs et signalait leur action excito-formatrice sur des tranches de racines de carotte.

*
* *

Dès le début de nos travaux, nous avons constaté que des extraits lipidiques totaux de tissus cancéreux humains provoquaient d'importantes réactions sur les tiges de *Pelargonium* et de *Ricin*.

La comparaison avec des extraits de tissus normaux homologues, provenant d'opérations de chirurgie esthétique, nous apprit que ces réactions n'étaient aucunement liées à l'état pathologique du tissu objet de l'extraction, mais uniquement à la nature de la graisse obtenue.

Nous avons été alors amené à étendre le champ de nos investigations à de nombreuses graisses et huiles d'origine animale et végétale. Les huiles minérales ont permis quelques comparaisons utiles.

Restreignant notre étude à quelques végétaux supérieurs, nous avons fait agir ces lipides sur les tiges de plantes adultes et les racines de plantules.

L'exposé des résultats obtenus fait l'objet du présent mémoire.

Après un bref rappel historique, un chapitre préliminaire décrit succinctement le matériel et les techniques employés.

L'exposé des résultats expérimentaux est divisé en deux parties.

La première est consacrée aux effets des lipides introduits dans les tiges ; la seconde à la circulation et à la métabolisation des lipides dans les tiges, ainsi qu'à leur absorption par les racines.

Les problèmes soulevés par ces recherches sont envisagés dans les considérations générales qui terminent notre travail.

*
* *

Au seuil de cet exposé, notre pensée se tourne vers tous ceux qui nous ont encouragé, aidé, assisté.

Que M. le Professeur MANGENOT nous permette de lui exprimer ici toute notre gratitude pour avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire de Paris et celui de Fontainebleau, de nous avoir sans cesse guidé en un terrain semé d'embûches et de nous avoir fait donner toute l'assistance technique nécessaire. Sans ses conseils et son soutien, ce travail n'aurait pu aboutir.

Nous tenons à exprimer nos sentiments très reconnaissants à M. le Pr. CAMUS, qui a accepté de faire partie de notre jury et s'est imposé la tâche ingrate de revoir minutieusement un manuscrit imparfait ; il est vrai que depuis plusieurs années il nous encourageait vivement à le rédiger...

Nous remercions M^{lle} le Pr. LE BRETON d'avoir bien voulu accepter également de faire partie de notre jury et de relire notre texte en nous faisant bénéficier de ses conseils.

Notre vive reconnaissance va aussi à M. le Pr. EICHHORN, qui a autorisé la publication de ce mémoire dans la *Revue de Cytologie et de Biologie végétales* qu'il dirige et nous a aidé de ses conseils.

Nous tenons à remercier tous ceux qui, au long des années écoulées, nous ont apporté leur aide :

M. le Pr. PERPEROT, Professeur honoraire à l'Ecole de Physique et Chimie de la Ville de Paris, nous a appris la technique des saponifications ;

M. PAQUOT, Directeur du Laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S., nous a permis de réaliser des expériences à partir des triglycérides de l'huile d'arachide, nous a prêté son concours dans l'étude de la métabolisation des lipides et a accepté de relire, en nous prodiguant de judicieux conseils, les chapitres relevant de son domaine.

M^{me} S. MANGENOT nous a initié aux techniques cytologiques et nous a particulièrement aidé à l'occasion des expériences portant sur l'action des substances mitoclasiques liposolubles.

M^{lle} C. DELAY, Maître de Recherches au C.N.R.S., nous a guidé à certaines époques quotidiennement de ses précieux conseils, et a bien voulu accepter de relire notre texte.

MM. les Drs TAILHEFER et PILLERON, ainsi que leurs collègues de la Fondation Curie, nous ont procuré la plupart des pièces opératoires qui ont servi à nos extractions.

M. le Pr. LEDERER, M. le Pr. ANDRÉ, MM. FERRAND et SERVANT, de l'I.R.H.O., ont bien voulu nous procurer des corps gras ou des produits utiles pour nos recherches.

M. le Pr. VAGUE, de la Faculté de Médecine de Marseille, nous a adressé divers insaponifiables purifiés dans son Laboratoire.

De nombreux laboratoires pharmaceutiques, parmi lesquels l'U.C.L.A.F., nous ont fait parvenir des produits divers, notamment des hormones cristallisées.

M. BRACKMAN, courtier en oléagineux, nous a fourni gracieusement de nombreux échantillons d'huiles et de graisses. Enfin, des Pelargonium ont été aimablement mis à notre disposition durant toutes nos recherches par les Ets Truffaut et surtout par les serres du Muséum national d'Histoire naturelle.

Nous ne saurions oublier tous ceux — et ils sont nombreux — camarades et amis, qui se sont succédés à nos côtés au laboratoire. Nous avons constamment bénéficié de leurs conseils et de leurs encouragements.

Nous remercions vivement de l'aide qu'ils nous ont apportée les techniciens que le Laboratoire, puis le C.N.R.S., ont mis à notre disposition, et qui nous ont successivement prêté leur concours.

Enfin nous ne pouvons clore cette liste, sûrement incomplète, sans évoquer le nom de M. le Professeur DUCUING, à qui nous devons d'avoir pu commencer nos premières recherches de biologie végétale à son Centre Anti-cancéreux, aux heures sombres où le Gouvernement de Vichy nous chassait de la Faculté des Sciences de Toulouse. Nous lui adressons l'expression de notre fidèle souvenir et de notre affectueuse reconnaissance.

HISTORIQUE

Si des études cyto-physiologiques approfondies ont été consacrées aux lipides endogènes des végétaux, il n'en a pas été de même pour les effets des huiles et des graisses d'origine étrangère. Celles-ci pourtant, comme le constatait PFEFFER en 1904, « trouvent assez facilement leur chemin dans les cellules vivantes ».

Ce que les physiologistes venaient de découvrir, les arboriculteurs le savaient déjà : les traités d'arboriculture fruitière, qui nous rapportent un usage fort ancien, « le toucher des figes », en sont le témoignage. Les arboriculteurs parviennent à hâter la maturation de 8 à 10 jours en déposant une goutte d'huile d'olive sur l'œil des figes à développement complet. Cette pratique est sans doute la plus ancienne expérience concernant notre sujet ; elle établit déjà le rôle stimulant d'une huile d'origine étrangère sur la transformation des acides organiques en sucres.

A la fin du XIX^e siècle et au début du XX^e les botanistes, préoccupés par l'absorption des matières organiques du sol et l'utilisation des réserves par les graines oléagineuses, ont fait certains travaux sur la nutrition des végétaux supérieurs en milieux additionnés de lipides, de phospholipides et de glycérine, ainsi que sur la pénétration d'huiles étrangères dans les tissus et les cellules.

Rapidement l'intérêt se déplaça vers les problèmes de l'osmose et du passage des ions à travers les membranes. Tandis que de nombreux mémoires relataient les effets des graisses et des huiles sur les organismes inférieurs, en particulier les Champignons, la pénétration des lipides dans les tissus des végétaux supérieurs ne fut plus guère étudiée, si ce n'est occasionnellement. Les effets des huiles minérales, utilisées comme solvants de fongicides ou d'insecticides, faisaient pendant ce temps l'objet d'études approfondies.

Les recherches concernant les effets des lipides sur les végétaux supérieurs sont trop fragmentaires pour que nous puissions négliger les travaux sur l'action de la glycérine et même des huiles minérales. Nous rappellerons les principales expériences sur leur absorption par les racines ou divers organes sectionnés, puis les effets obtenus par leur introduction directe dans une blessure de tige ou dans les feuilles.

I. — ABSORPTION DES LIPIDES ET DE CERTAINS DE LEURS CONSTITUANTS PAR DES RACINES OU DES ORGANES SECTIONNES

Les premières recherches sur « la vie dans l'huile » paraissent avoir été effectuées par VAN TIEGHEM (1881). Pour cet auteur, « non seulement des graines imbibées d'air et d'eau ne germent pas dans l'huile, mais des plantes en voie de développement normal qui proviennent de la germination normale de ces graines cessent de croître dès qu'on les plonge dans ce liquide ».

En 1888, Emile LAURENT affirme que des fragments de feuilles et de tiges isolées de pomme de terre, plongées dans une solution nutritive à base de glycérine, forment de l'amidon. En 1889, ACTON obtient le même résultat avec des plantes entières privées d'amidon par culture dans une atmosphère sans CO². La même année, WIELER constate une hypertrophie de différents tissus chez *Phaseolus multiflorus* cultivé sur des milieux additionnés de glycérine à 3 %.

En 1895, J. STOKLASA consacre une étude importante à l'assimilation des lécithines par les plantules d'avoine dont elles n'empêchent pas le développement normal. Il établit que les lécithines absorbées par les racines sont métabolisées par les plantules et conclut en affirmant : « C'est là la première preuve d'une assimilation de l'acide phosphorique sous forme organique par les Phanérogames. »

Pour J. LAURENT (1904), l'absorption d'une solution aqueuse de glycérine à 0,66 % par des racines de Maïs, de Pois et de Lentille provoque l'hypertrophie de nombreuses cellules, notamment dans le parenchyme cortical de la racine de Pois. Des solutions aqueuses de glycérine à 5 % entraînent également chez cette plante des recloisonnements cellulaires dans le péricycle et la moelle. MOLLIARD, de son côté, signale, en 1907, les effets toxiques de la glycérine en solution aqueuse à 1 % sur le développement du Radis et de l'Oignon.

Une technique habile pour colorer les concrétions lipidiques intravacuolaires de la racine chez des plantules de Blé amène REILHES (1936) à confirmer les travaux de STOKLASA sur l'absorption et l'assimilation de la lécithine en solution aqueuse.

GARRIGUES (1941 et 1957) expose le procédé original qu'il utilisa pour faire agir des huiles pures (huiles de ricin et de vaseline, trioléine) directement sur les racines de *Pisum sativum* et de *Vicia faba*, en isolant de leur contact le méristème et la région subterminale. L'huile de ricin inhibe moins la croissance de la plantule que la trioléine ou l'huile de vaseline ; ces deux derniers produits donnent au surplus à la racine d'abord, à la plantule entière ensuite, un aspect gras dû à une pénétration intratissulaire intense.

Au cours de ses expériences, GARRIGUES remarque que l'huile de ricin ne pénètre pas dans les racines des plantules. Des figures atypiques de mitose sont décrites sous l'effet de la trioléine et de l'huile de vaseline, ce qui « élimine *ipso facto* l'emploi de ces substances dissolvantes des carbures cancérogènes, car elles ont déjà une action mitoclasique ».

En 1950, CHRISTIANSEN et THIMANN constatent une inhibition de la croissance des épicotyles de Pois sectionnés, lorsqu'on cesse d'ajouter des lipides aux milieux de culture. Cette observation suggère aux auteurs l'idée d'une relation entre le métabolisme des lipides et l'activité auxinique.

STOWE (1958) signale que des sections d'épicotyles de Pois subissent une elongation comparable à celle des épicotyles normaux sous l'effet de fractions glycéridiques ayant pour origine des extraits de plantules de Pois et des esters d'acides gras. Tout en attribuant aux esters un rôle auxinique, il ne peut les rattacher ni à l'acide indole-acétique, ni à l'acide gibbérellique.

Poursuivant ses recherches, cet auteur démontre que les lipides n'exercent par eux-mêmes aucune influence sur la croissance des épicotyles de Pois isolés : ils agiraient par l'intermédiaire des auxines (1959). Pour HACKETT et SCHNEIDEMAN (1955), l'auxine ne peut intervenir sur des sections de Pois que par la mise en jeu de la cytochrome oxydase. STOWE établit alors une comparaison entre ce synergisme lipidique et la restauration de l'activité des cytochromes dans les particules cytoplasmiques animales.

II. — INTRODUCTION DIRECTE DE LIPIDES, DE CERTAINS CONSTITUANTS DES LIPIDES ET D'HUILES MINÉRALES DANS LES TIGES ET LES FEUILLES

Un seul travail important a été directement consacré à l'introduction de lipides dans les tiges des végétaux supérieurs : celui de SCHMIDT (1891), fait sous l'impulsion de PFEFFER.

A l'origine de ces recherches, on trouve le problème de la circulation des graisses endogènes au cours de la germination des graines oléagineuses.

SACHS avait soutenu (1863) que les huiles endogènes étaient capables de passer de cellule en cellule lors de la germination. En 1867, HOFMEISTER affirmait le contraire. DETMER, de son côté, écrivait en 1880 que l'huile peut traverser les membranes cellulotiques.

SCHMIDT estima qu'il devait s'adresser à des huiles étrangères à la plante, les introduire dans la tige, étudier leur localisation et suivre éventuellement leur trajet. Il fait pénétrer par une blessure dans la tigelle étiolée de *Pisum sativum* un buvard imprégné d'huile d'amandes douces. Il voit l'huile se répandre dans la tigelle par les espaces intercellulaires et

se fixer dans le cytoplasme sous forme de fines gouttelettes. La pénétration intracellulaire est améliorée par l'adjonction à l'huile d'une faible quantité d'acide oléique. SCHMIDT pense que le corps gras est absorbé sans modification et chemine de cellule en cellule. Il attribue cependant un rôle particulier aux acides gras libres figurant dans l'huile ou ajoutés à celle-ci. Ces acides gras entrent dans la constitution de savons qui auraient une double action :

- ils émulsionnent finement les graisses neutres ;
- imbibant les membranes cellulaires, ils les rendent perméables aux graisses émulsionnées.

Au cours de cette étude essentiellement histologique et physico-chimique, SCHMIDT ne signale aucune réaction particulière des tigelles de Pois aux huiles et graisses utilisées (huiles d'olive et d'amande, beurre de cacao).

En dehors de ce mémoire de SCHMIDT, sur lequel nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement, aucun travail d'ensemble n'a porté sur la pénétration et le rôle propre des lipides d'origine étrangère dans les tissus des végétaux supérieurs. C'est seulement à l'occasion de recherches sur l'action des carbures cancérogènes, des auxines, des hormones animales, que des huiles et graisses, employées comme solvants, ont fait l'objet d'une expérimentation destinée à fournir des éléments de comparaison.

Laissant de côté la multitude des expériences portant sur les badigeonnages de blessures ou de sections de tiges décépitées, au moyen de pâtes lanolinées, nous citerons quelques travaux où le rôle propre des huiles commence à se dégager.

REHWALD (1927 *a*) étudie l'action sur la Carotte, le Chou, le Pois et la Fève d'émulsions aqueuses à 1 % de beurre et d'acide oléique. De petits nodules d'origine cambiale se développent ; il les rattache dans un travail ultérieur aux effets des blessures (1927 *b*).

En 1934 LEVINE, dans un « rapport préliminaire sur des plantes traitées par les agents cancérogènes pour les animaux », effectue des badigeonnages par ces agents en solution dans l'huile d'olive et remarque que celle-ci, utilisée seule, détermine sur le Ricin et *Datura* des cals cicatriciels. En 1936, le même auteur signale de faibles réactions du Ricin et d'*Helianthus* après injection d'une huile d'olive contenant du dibenzanthracène.

En 1937 LEVINE et CHARGAFF constatent que la fraction grasse extraite d'*Agrobacterium tumefaciens* provoque la formation de racines sur les entrenœuds blessés de Soucis, ainsi que des hypertrophies sur les tiges de Tournesol. Ils pensent trouver dans « l'action de cette graisse qui stimule la croissance des cellules » l'explication de la présence de cellules géantes dans les tissus de crown-gall.

Des tiges de Soleil, badigeonnées par BERTHELOT et AMOUREUX (1937)

avec des solutions de benzanthracène et de benzopyrène dans l'huile de vaseline, montrent une « hyperplasie des cellules épidermiques ». La même année, HAVAS signale l'action inhibitrice de l'acide palmitique sur la croissance des tumeurs provoquées sur la tige de Tomate par *Agrobacterium tumefaciens*.

En 1939, ROSE et HAMON provoquent, sur la racine de Pois, de petites excroissances par injection de benzoate d'oestradiol en solution huileuse, et invoquent le rôle possible du solvant : « Les huiles végétales contiennent toujours un peu d'auxine dont l'action tumorigène sur les végétaux est bien démontrée ». Utilisant le solvant seul (huiles d'arachide et d'olive), ils obtiennent des réactions de même type et de même intensité. Ils en concluent que le « pouvoir tumorigène » doit être attribué à l'huile ; malheureusement, la nature exacte des excroissances n'est pas définie et l'huile n'a pas été recherchée dans les tissus.

En 1942, BUVAT fait agir du méthylcholanthrène et du benzopyrène dissous dans l'huile de ricin sur le parenchyme libérien de Carotte cultivé *in vitro* ; BUVAT signale avec l'huile de ricin pure la formation de « quelques excroissances du cambium peu importantes ». Ici également l'huile ne paraît pas avoir été recherchée dans les tissus.

Des injections d'huile d'olive et d'huile de ricin faites par GARRIGUES (1944) dans des tiges de *Ricinus communis*, à l'occasion de recherches sur les carbures cancérogènes, ont déterminé une prolifération du parenchyme médullaire un peu supérieure à celle provoquée par de simples blessures. Le même auteur constate que des badigeonnages des tiges de *Pelargonium zonale* par la trioléine et l'huile d'olive entraînent la nécrose complète, par l'huile de ricin, des nécroses partielles localisées.

Dans un article publié en 1946, WITHROW et HAWLETT ont passé en revue les solvants susceptibles de permettre l'introduction dans les végétaux des régulateurs de croissance. Les auteurs indiquent que la lanoline à température ambiante ne cause pas de lésions, mais si elle est appliquée fondue sur des feuilles de Tomate et de Soja, celles-ci paraissent gorgées d'huile et pourrissent. Il en est de même pour la vaseline qui provoque de graves lésions à température élevée, mais demeure sans effets à basse température. L'huile de paraffine tue les tissus en leur donnant un aspect très hydraté ; les hydrocarbures solides, même mélangés à la lanoline, ne produisent aucune lésion, de même que les cires. Le beurre de cacao, la graisse de bœuf en pâtes lanolinées produisent sur les feuilles de Tomate et de Soja des lésions diverses ; les huiles de coco, d'olive et de blé entraînent des nécroses. Les effets phytotoxiques de ces huiles paraissent dus, au moins pour partie, à leur température assez élevée au moment de leur application.

RYBAK, en 1948, a injecté avec la bactérie du crown-gall de l'huile de vaseline et du glycérol. Il obtient avec l'huile de vaseline une réduction

du temps de latence de la tumorigénèse et avec le glycérol une réaction plus lente aboutissant cependant à la production de tumeurs plus importantes. Pour RYBAK, le glycérol provoquerait dans un premier temps une plasmolyse des cellules en raison de sa viscosité, puis dans un second temps, de par sa tensio-activité, une turgescence considérable.

Enfin, l'utilisation des insecticides et des fongicides a donné lieu depuis environ trente ans à de nombreux travaux concernant l'action phytotoxique des hydrocarbures employés sous diverses formes. Nous rappellerons brièvement les plus importants au point de vue de la pénétration et de la répartition des huiles minérales dans les végétaux (1).

En 1930, BAILEY conserve vivant et capable de se développer le tissu cambial de différents arbres placé vingt jours dans une huile minérale ; il étudie les effets sur le vacuome des phénomènes asphyxiques ainsi provoqués.

ROHRBAUGH (1934) consacre un important travail à la pénétration et à l'accumulation des huiles minérales pulvérisées sur les feuilles, les rameaux et les fruits de Citronniers. Utilisant des émulsions, il constate que les huiles minérales pénètrent facilement dans les tissus végétaux par les stomates et en s'insinuant dans les espaces intercellulaires. Elles se concentrent dans les feuilles le long des nervures, dans les rameaux jusqu'au cœur de la moelle, mais subissent de faibles translocations qui s'effectuent uniquement par capillarité. Ces huiles s'accumulent dans le végétal au cours de traitements successifs et finissent par devenir toxiques. ROHRBAUGH signale une pénétration de ces huiles dans les fibres vasculaires et les vaisseaux du bois, exceptionnellement dans certaines cellules parenchymateuses renfermant des cristaux d'oxalate de Ca. Dans tous les autres cas la localisation observée est intercellulaire.

MINSHALL et HELSON (1949), HAVIS (1950) pulvérisent des huiles minérales préalablement colorées sur des feuilles de Carotte, de Panais et de Pissenlit. Ils remarquent que les huiles toxiques pénètrent dans les cellules tandis que les huiles non toxiques restent localisées dans les espaces intercellulaires. La phytotoxicité paraît liée à la concentration de l'huile en carbures aromatiques.

DALLYN (1953) estime que la coloration préalable de l'huile minérale augmente sa toxicité, et colore des coupes de feuilles non fixées de Haricot vert (variété Valentine noire) par le Soudan IV. Les résultats obtenus confirment ceux de HAVIS : les huiles toxiques pénètrent dans les cellules et désorganisent le cytoplasme ; les chloroplastes dépourvus de toute protection sont alors exposés aux effets nocifs de la lumière et détruits. Les mêmes huiles peu toxiques pour les cellules de Carotte ne sont observées dans les tissus de cette plante que dans les espaces intercellulaires et leur toxicité paraît seulement en relation avec un trouble du métabolisme hydrique.

CURRIER et PEOPLES (1954) considèrent que la solubilité dans l'huile des hydrocarbures (benzène, cyclohexène, cyclohexane, hexène ou hexane) est proportionnelle à leur toxicité surtout quand une huile organique (huile de coton) est utilisée comme solvant. Sans apporter la démonstration d'une pénétration intracellulaire des hydrocarbures nébulisés directement ou en solutions huileuses, ces auteurs pensent qu'ils deviennent toxiques par rupture des membranes cellulaires entraînant, comme l'avait déjà constaté DALLYN, de graves lésions cytoplasmiques et la destruction des chloroplastes.

Plus récemment, CULLÉ et BLANCHET (1958) ont repris l'étude de cette question d'un intérêt particulier pour les cultures fruitières tropicales. Sur des plants de

(1) Outre les travaux sur lesquels nous donnons quelques détails, il convient de citer ceux de KNIGHT, CHAMBERLAIN et SAMUELS (1929), BARTHOLOMEW (1929), KELLY (1930), GINSBURG (1930), YOUNG (1935), TURRELL (1947).

Maïs ils montrent que « la phytotoxicité (des huiles minérales) se traduit par une inhibition importante de la croissance et par la destruction partielle des tissus foliaires ». Ces auteurs attribuent une action phytotoxique aux composés non saturés qui agiraient soit directement, soit après décomposition par la lumière. Une action plus lente serait due à des facteurs physiques encore mal déterminés. La phytotoxicité des huiles minérales est cependant secondaire à des traitements trop souvent répétés ou mal appliqués : GUYOT et CUILLE (1958) ont établi que les huiles minérales seules, appliquées en « brouillards légers », sont un moyen efficace de lutte contre *Cercospora musae*, sans nuire cependant au développement normal des bananiers.

On voit par ce simple exposé où figure l'essentiel des travaux concernant non seulement les lipides, mais aussi la glycérine et les huiles minérales, qu'en réalité jusqu'à présent aucune recherche d'ensemble n'a été entreprise sur les effets des lipides introduits dans les tiges des végétaux supérieurs.

MATERIEL ET TECHNIQUES

Nous décrirons brièvement les plantes, les corps gras et les diverses fractions utilisés, les techniques expérimentales et les techniques cytologiques auxquelles nous avons eu recours.

I. — PLANTES UTILISEES

Nos expériences ont porté principalement sur le *PELARGONIUM* (Géraniacées), le *RICIN* (Euphorbiacées) et secondairement sur le *TABAC* (Solanacées).

Pelargonium. — Plus de mille *Pelargonium zonale* appartenant à diverses variétés horticoles à fleurs rouges et roses ont été utilisés. Il nous a été malheureusement impossible de suivre un même clône. La plupart de ces plantes provenaient des jardins du Muséum d'Histoire Naturelle, deux cent cinquante d'entre elles des Etablissements Truffaut, et nous avons fait nous-même de nombreux bouturages. Nous n'avons pas remarqué de différence notable entre les diverses variétés au cours de nos expériences, mais nous avons dû éliminer les variétés à fleurs doubles, à tige charnue qui réagissaient mal et pourrissaient sous l'effet des lipides.

Certaines plantes étaient âgées de deux ou trois ans, d'autres provenaient de boutures de l'année ; les expériences ont généralement porté sur les pousses de l'année facilement reconnaissables et, le plus fréquemment, sur les 2°, 3° et 4° entrenœuds sous-apicaux. Cependant, nous avons souvent pratiqué des blessures sur tous les entrenœuds afin de comparer les réactions à différents niveaux.

Ricin. — Plus de cinq cents Ricins appartenant à l'espèce *Ricinus sanguineus* (Vilmorin) ont été semés et cultivés en serre ou sur les terrains de culture du Laboratoire de biologie végétale de Fontainebleau. En serre, les plantes ont atteint en moyenne 60 à 90 cm ; en pleine terre, certains Ricins ont dépassé 1 m 80, la moyenne se situant autour de 1 m 50. La variété que nous avons utilisée est caractérisée par ses qualités ornementales dues à l'abondance des pigments anthocyaniques. Blessures et injections ont été faites dans les entrenœuds à tous les

niveaux. Nous avons fait également quelques expériences sur *Ricinus zanzibarensis* (Vilmorin) cultivé en pleine terre à Fontainebleau.

Tabac. — Nos expériences ont porté sur des pieds de *Nicotiana tabacum*, variété White Burley, provenant des serres du Muséum. Les blessures ont été pratiquées sur des tiges jeunes atteignant 40 à 60 cm de hauteur et dont chaque entrenœud mesurait de 3 à 6 cm.

D'autres plantes seront citées au cours de ce travail ; nous n'avons fait sur elles que des essais et non des séries expérimentales suivies. Aussi ne seront-elles mentionnées qu'à l'occasion de la description de ces expériences.

II. — CORPS GRAS ET PRODUITS EXPERIMENTES

Au début de nos recherches nous nous sommes surtout intéressé à l'action d'extraits lipidiques de tissus humains. Puis nous avons étudié les effets d'assez nombreuses huiles et graisses d'origine animale et végétale, de diverses fractions entrant dans la composition de ces lipides, et enfin des huiles minérales.

Certains lipides ont provoqué, en particulier chez le *Pelargonium* et le Ricin, la formation et le développement d'hyperplasies caractéristiques. Nous les désignerons au cours de ce travail sous le nom de lipides actifs et nous en donnerons deux listes, l'une pour les réactions médullaires de *Pelargonium zonale* (p. 209), l'autre pour les réactions du parenchyme cortical de *Ricinus sanguineus* (p. 252). D'autres lipides n'ont provoqué que des effets non spécifiques, ou ne sont à l'origine d'aucune réaction ; ils ont été qualifiés d'inactifs.

A. — Graisses de tissus humains

Elles ont été obtenues à partir de fragments de tissus cancéreux prélevés sur des pièces opératoires fraîches, ou à partir de tissus normaux obtenus dans les mêmes conditions à la suite d'opérations de chirurgie esthétique. Les épithéliomas mammaires et utérins, les tissus mammaires et le pannicule abdominal ont constitué nos principales sources de lipides humains.

Les graisses ont été isolées suivant les méthodes classiques : extraction des tissus dilacérés par l'alcool à 95°, au reflux pendant une heure, épuisement par l'alcool à 95° ou l'éther de pétrole au Kumagawa ou au Soxhlet pendant six à huit heures, distillation de l'alcool ou de l'éther de pétrole sous vide, filtration, évaporation des solvants, conservation

des lipides obtenus à 3-4°. Par la suite, nous avons constaté que la méthode d'extraction pouvait être simplifiée et que des tissus finement hachés, extraits par l'éther de pétrole à froid, fournissaient une graisse aussi active.

Par simple compression de tissus frais nous avons obtenu également des graisses actives, mais qui s'avèrent rapidement toxiques pour les plantes.

Pour la saponification des graisses et l'obtention de l'insaponifiable nous avons suivi la méthode de LEMELAND modifiée par TRUHAUT. Nous avons cependant remarqué que l'activité des insaponifiables sur les plantes n'était pas modifiée par les phénomènes d'oxydation et qu'il était inutile d'opérer la dernière phase de distillation des solvants en atmosphère d'azote.

B. — Huiles et graisses animales

Nous avons utilisé des huiles et graisses variées de Mammifères et de Poissons.

1° MAMMIFÈRES. — Lanoline (Prolabo), graisse mammaire de bœuf (extraite), huile de pieds de bœuf (commerciale), huile de pieds de mouton (commerciale), huiles de phoque et de spermacéti (commerciales).

2° POISSONS. — Huile dite de poissons (commerciale), huiles de sardine (brute et raffinée, commerciale), de foie de morue (médicinale, pharmaceutique et industrielle), de foie de poissons (commerciale), de requin (commerciale), de requin d'Argentine, de foie de lamie, de foie de grande roussette, de foie de raie (extraites).

C. — Huiles et graisses végétales

Elles ont toutes été d'origine commerciale, à l'exception de quelques-unes pour lesquelles nous donnerons des indications d'origine. Nous avons groupé ces lipides selon les familles végétales dont ils proviennent.

PALMIERS : huiles de palme (I.R.H.O.), de palmiste (I.R.H.O.) et de coco.

JUGLANDACÉES : huile de noix.

MALVACÉES : huile de coton.

EUPHORBIACÉES : huile de ricin.

CRUCIFÈRES : huile de colza.

PAPAVÉRACÉES : huile d'œillette.

LINACÉES : huile de lin.

LÉGUMINEUSES : huiles d'arachide et de soja.

ROSACÉES : huile d'amandes douces.

VITACÉES : huile de pépins de raisins.

SAPOTACÉES : beurre de karité (I.R.H.O.).

OLÉACÉES : huile d'olive (commerciale et de provenance I.R.H.O.) et de grignons d'olive.

PÉDALIACÉES : huile de sésame.

COMPOSÉES : huile de tournesol.

CUCURBITACÉES : huile de pépins de citrouille.

GRAMINÉES : huile de germe de blé, huile de maïs.

Huiles végétales industrielles : « tall-oil bidistillé » extrait du bois de pin et « métil-oil » (huile synthétique constituée d'esters d'acide ricinoléique).

D. — Huiles minérales

Huiles du commerce vendues sous les dénominations d'huiles de vaseline et de paraffine.

E. — Fractions diverses entrant dans la composition des lipides

Nous avons étudié les effets de divers constituants des lipides que nous avons pu obtenir soit par des laboratoires pharmaceutiques, soit par des laboratoires de recherche.

1° GLYCÉRIDES. — En dehors de la trioléine (Rhône-Poulenc) nous avons étudié les effets des triglycérides de l'huile d'arachide obtenus par estérification des acides gras au laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S.

2° PHOSPHOLIPIDES. — Deux lécithines de soja provenant des Ets Ravaud.

3° ACIDES GRAS. — En dehors des acides gras obtenus par les saponifications que nous avons effectuées, nous avons étudié les effets des acides caprylique, caprique, caproïque, stéarique, palmitique, laurique et myristique provenant du laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S.

4° ALCOOLS GRAS. — Toute une série d'alcools gras dont les échantillons nous ont été donnés par le laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S. : C16, C14, C12, C10 et C8.

5° INSAPONIFIABLES BRUTS. — En dehors des insaponifiables que nous avons isolés, nous avons pu utiliser des insaponifiables bruts, préparés par le laboratoire de M. le Pr. VAGUE, de la Faculté de Médecine de Marseille, à partir de graisses humaines, d'huiles de Baleine et de Maïs, un insaponifiable de beurre de Karité préparé par les laboratoires de l'I.R.H.O. et des insaponifiables d'huile d'arachide préparés par le laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S.

6° FRACTIONS D'INSAPONIFIABLES.

a) *Stérols et hormones stéroïdes*. — Le cholestérol nous a été fourni par les Ets Prolabo. Les stérols cristallisés : testostérone, oestradiol, progestérone, acétate de désoxycorticostérone, cortisone et ergostérol ont été gracieusement mis à notre disposition par l'U.C.L.A.F. Les stérols de l'huile de palme par le Laboratoire de Chimie de l'I.R.H.O. et le β -sitostérol par le laboratoire de Lipochimie du C.N.R.S.

b) *Pigments caroténoïdes, Vitamine A*. — Un concentré caroténé d'huile de palme nous a été remis par le laboratoire de Chimie de l'I.R.H.O. Le carotène pur provenait des Ets Rhône-Poulenc. La vitamine A en solution huileuse des laboratoires Egic et Bon, sous forme cristallisée des laboratoires de l'Alimentation équilibrée à Commeny.

c) *Tocophérol*. — Le produit que nous avons utilisé nous a été gracieusement adressé par le laboratoire Hoffmann-Laroche.

d) *Carbures*. — M. le Pr. LÉDERER nous a aimablement procuré du squalène, M. le Pr. LACASSAGNE du méthylcholanthrène et M. FERRAND, de l'I.R.H.O., du karitène.

F. — Régulateurs de croissance

Pour certaines expériences nous avons eu recours aux régulateurs de croissance : acide indol- β -acétique, acide indol butyrique, acide naphthalène acétique. Ils ont été utilisés, de même que l'acide 2-4 désoxychlorophénoxyacétique, en pâtes lanolinées, en solutions aqueuses ou huileuses, pour des applications externes.

III. — TECHNIQUES EXPERIMENTALES

Les lipides ont été introduits dans les plantes par applications externes, par injections et par absorption au niveau des racines.

Certains d'entre eux, qui se sont révélés sans action sur les plantes, ont servi à diluer des huiles et des graisses actives ; citons en particulier la lanoline, l'huile de coton et l'huile d'olive. Nous avons également utilisé à cette fin la vaseline, l'huile de vaseline et l'huile de paraffine. Les dilutions ont été faites suivant des proportions variables en fonction de la toxicité des lipides pour les plantes.

A. — Applications externes

1) **BADIGEONNAGE DES TIGES.** — Ils sont pratiqués soit avec un pinceau, soit avec une tige de verre. Lorsque l'épiderme est couvert de poils (cas du *Pelargonium*, du Tabac), leur rupture facilite la pénétration. Un seul badigeonnage est généralement insuffisant. Pour obtenir l'introduction de lipides jusqu'à la moelle, trois ou quatre badigeonnages, effectués à deux jours d'intervalle, sont nécessaires.

2) **MANCHONS DE COTON.** — Une excellente pénétration des lipides est obtenue en enroulant autour de la tige un coton imbibé d'huile ; ce coton est laissé en place une dizaine de jours. Toutefois, ce procédé a l'inconvénient d'entraîner des nécroses superficielles.

3) **BLESSURES.** — Nous avons opéré deux à trois piqûres profondes par entrenœud avec une pointe stérile. Pour faciliter la pénétration des huiles, et surtout des graisses, nous avons dû choisir des pointes de forte section et nous avons élargi légèrement l'orifice des blessures. Pour certaines expériences nous avons fait une seule piqûre par entrenœud, mais avec un orifice large (5/10^e mm environ).

Les blessures sont immédiatement recouvertes soit de graisses ou d'huiles pures, soit d'emplâtres lanolinés ou vaselinés. Les graisses et les emplâtres sont chauffés légèrement avant leur application, afin d'assurer leur pénétration par les fentes de blessure. Les produits sont renouvelés tous les deux ou trois jours pendant la première quinzaine.

B. — Injections dans les tiges

Ces injections sont faites au moyen d'aiguilles de forte section (type trocart) montées sur seringues. Pour les injections dans les tiges pleines il faut exercer une pression suffisante, pendant une minute environ, afin que quelques gouttes d'huile ou de graisse diffusent sans provoquer de lésions trop importantes. Les injections dans les tiges creuses sont plus aisées et doivent seulement être précédées de la perforation de la tige au sommet de chaque entrenœud afin de constituer un orifice de décompression. Les quantités injectées sont variables : de 0,2 ml pour un entrenœud sous-apical jusqu'à 40 ou 50 ml pour l'entrenœud médian d'un ricin haut de 1 m 80.

Il est utile de remplir chaque entrenœud jusqu'au ras de l'orifice d'injection afin d'éviter dans la mesure du possible une oxydation trop rapide des corps gras et de permettre un contact continu avec les parois de la cavité médullaire.

C. — Absorption par les racines

GARRIGUES (1951) avait imaginé un dispositif permettant à la plantule dont les racines sont mises au contact d'une huile de conserver certaines régions dans l'eau. Cette technique a pour inconvénient de laisser une partie de la racine en milieu huileux et de provoquer à ce niveau des conditions d'asphyxie.

Désireux d'étudier à la fois l'absorption et les effets cytophysiologiques des lipides, nous avons préféré plonger les racines dans des émulsions fines d'huile dans l'eau. Elles se trouvent alors dans des conditions plus normales. Les émulsions ont été faites au mixer (Turmix trois vitesses), de façon standard. Elles sont stables, mais doivent être renouvelées fréquemment, parfois même quotidiennement, car elles favorisent le développement de champignons et de bactéries. Les plantules sont placées sur des bouchons de liège perforés qui les retiennent au niveau du collet.

IV. — TECHNIQUES CYTOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES

Pour de nombreuses études, nous avons eu recours aux techniques cytologiques classiques : Fixations par les liquides de Helly et de Regaud, colorations selon la méthode de Feulgen-vert-lumière, par l'hématoxyline ferrique pour les examens cytologiques, et le bleu de méthylène aluné-rouge de ruthénium pour les études histologiques.

Mais les techniques habituelles ne permettant pas la conservation des lipides, nous avons aussi utilisé les techniques spéciales indiquées par LISON : fixation par le formocalcium de Baker, coloration par le Noir Soudan (Gürr ou Merck) en solution alcoolique ou dans la diacétine, avec coloration de fond au rouge de ruthénium ou par le carmin aluné de Grenacher.

Nous nous sommes servi également d'un fixateur indiqué par DOP et GAUTIÉ pour les noyaux et qui, très légèrement modifié, permet la conservation des lipides : c'est le fixateur de MOREL et DALOUS, dans lequel nous remplaçons l'alcool absolu par l'alcool à 95° et, dans certains cas, à 70° (alcool éthylique 9 parties, formol 1 partie, acide acétique glacial 1 partie). Ce fixateur a l'avantage de gonfler les noyaux et de permettre une meilleure recherche des lipides intranucléaires ; il est du reste très voisin du fixateur indiqué aux mêmes fins dans un travail récent par ALBUQUERQUE et SERRA (1951). Selon la taille des fragments, il convient de les laisser de 20 minutes à 4 heures dans le fixateur ; un lavage soigneux doit être fait à l'eau courante pendant 24 à 48 heures.

Pour la recherche des lipides les coupes ont été faites au microtome à congélation sur des objets inclus directement dans la glace. On ne peut pas faire d'inclusion dans la gélatine, car celle-ci exige un séjour des objets à une température entraînant la fusion de la plupart des huiles et graisses. L'épaisseur moyenne des coupes a été de 30 à 40 μ ; nous avons pu faire des coupes de 15 à 20 μ en utilisant le moment critique très bref (une minute environ) où, avant le début de la fusion, glace et tissu végétal offrent la même résistance au rasoir.

La congélation des objets fixés n'entraîne pas de modification dans la répartition des lipides, et nous n'avons pas eu à noter l'envahissement des méats par l'eau cellulaire signalée par GENEVES (1955) pour le matériel vivant non fixé.

Les coupes sont recueillies dans l'eau distillée, placées dans des godets munis de treillis et passent ensuite dans les bains colorants.

Elles peuvent être également déposées sur des lames de verre auxquelles elles adhèrent fortement après évaporation de l'eau. Cette méthode permet d'utiles comparaisons, mais il convient de prendre garde aux artefacts provenant des déplacements de lipides qui se produisent lors

de la dessiccation : flaques lipidiques recouvrant les cellules, noyaux devenus entièrement soudanophiles. Cette technique qui permet le collage des coupes est particulièrement utile lorsqu'on désire délipider les préparations.

Les coupes sont montées directement dans la gélatine glycéinée tiède, pour éviter qu'un milieu de montage trop chaud n'entraîne des lipides, ou dans la glycérine. Le montage des préparations collées sur lame doit être précédé d'un passage sous vide pour éliminer les bulles d'air.

Nous avons suivi enfin les techniques indiquées par LISON pour la réaction de SMITH-DIETRICH, la réaction au bleu-Nil de LORRAIN SMITH, la méthode de ROMIEU, ainsi que les techniques classiques pour le démasquage des lipides : fixation au liquide de Helly et oxydation dans des bains de Lugol fort avant coloration par le Noir Soudan.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

PREMIERE PARTIE

EFFETS DES LIPIDES SUR LES TIGES

INTRODUCTION

Par les divers procédés que nous avons décrits : applications externes avec et sans blessures, injections, nous avons introduit des huiles et des graisses d'origine variée dans les tiges de certains végétaux supérieurs.

En l'absence de blessure, la structure des entrenœuds n'est pas modifiée par des applications externes de lipides. Cependant, si ceux-ci parviennent jusqu'à l'apex de la tige, la croissance s'arrête et diverses modifications structurales des sommités caulinaires apparaissent, notamment chez le Ricin.

Introduits par des blessures superficielles, ne lésant que le parenchyme cortical, certains lipides provoquent la formation d'excroissances chez le Ricin, alors que les écorces de *Pelargonium* et de Tabac sont insensibles à de telles incitations.

Les blessures profondes permettent d'obtenir, sous l'effet de certains lipides chez le *Pelargonium* (1), le Ricin et le Tabac, des réactions médullaires d'intensité variable. Ces réponses de la moelle, spécifiques, surtout chez le *Pelargonium*, des effets de certains lipides, peuvent être qualifiées de « tumeurs ». Nous reviendrons dans les considérations générales sur les raisons qui nous ont amené à employer cette qualification. Chez le Ricin, des réactions corticales se superposent aux tumeurs médullaires dans les parties basses de la tige.

Des réactions médullaires semblables ont été provoquées chez le *Pelargonium* et le Tabac par des injections. Chez le Ricin, l'injection de lipides variés dans la cavité médullaire entraîne la formation de verrucosités à la surface des tiges. A cette réaction superficielle s'ajoute, dans le cas de certains lipides (2), une intense hyperplasie corticale, souvent généralisée à tout l'entrenœud.

Nous laisserons de côté les malformations des sommités caulinaires que nous examinerons dans le chapitre consacré à la circulation des lipides.

(1) Nous donnons au chapitre 2, pp. 209-210, la liste des lipides actifs sur la moelle de *Pelargonium* à la suite d'applications externes.

(2) Nous donnons au chapitre 4, pp. 252-255, la liste des lipides actifs sur les tissus de Ricin à la suite d'injections dans la cavité médullaire.

CHAPITRE PREMIER

ETUDE MACROSCOPIQUE DES REACTIONS PROVOQUEES PAR LES LIPIDES

Les réactions différant selon le matériel utilisé, nous les décrirons successivement chez le *Pelargonium*, le Ricin et le Tabac.

I. — PELARGONIUM ZONALE

Des blessures profondes sont pratiquées dans les entrenœuds de tiges de *Pelargonium zonale*, et leurs orifices recouverts par une goutte de lipide actif pur ou dilué dans un solvant gras indifférent.

Certaines huiles provoquent, dès le 3^e jour, une réaction véritablement « explosive » avec éclatement de la tige et formation d'une crevasse brune.

Le plus souvent on peut lire macroscopiquement la réaction vers les 8^e-9^e jours. Elle se traduit par un écartement des lèvres de la blessure, puis par la rupture des tissus superficiels qui sont refoulés de chaque côté de la fente élargie et allongée (Pl. I, fig. 2), tandis qu'apparaît une petite masse blanchâtre. Celle-ci, vers le 15^e jour, remplit toute la fente avec parfois une saillie médiane. Nous avons schématisé à la Fig. 1 cette évolution dont différents stades apparaissent également sur les photographies de la Planche I (fig. 2 à 4).

Après 25-30 jours, souvent dès le 20^e jour, cette masse formée par le parenchyme médullaire peut atteindre des dimensions importantes : jusqu'à 2 cm de longueur (Pl. I, fig. 5).

Dans certains cas, il n'y a pas d'éclatement de la tige, mais un gonflement de plus en plus marqué des tissus superficiels soulevés par une petite masse médullaire constituée en nodule.

La croissance de la « tumeur médullaire » semble parvenir à un maximum vers les 40^e-50^e jours (Pl. I, fig. 8 et 9). C'est une tumeur cylindrique de 2 à 3 cm de hauteur sur 0,3 à 0,5 cm de diamètre, qui se stabilise et dont les zones superficielles se nécrosent (Pl. I, fig. 10). Elle peut demeurer

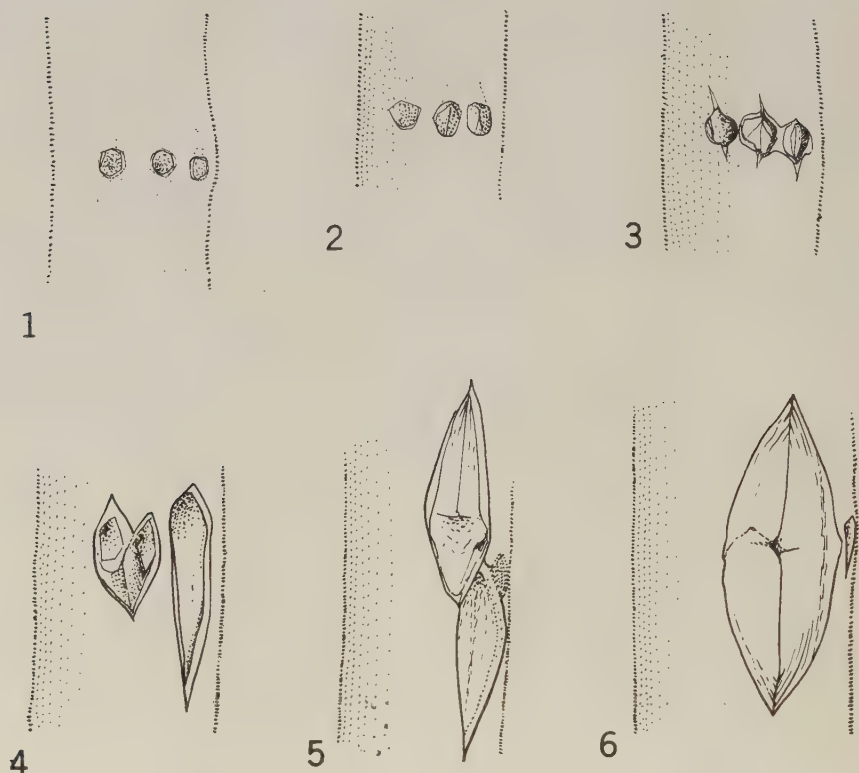


Fig. 1. — Aspects morphologiques d'une réaction moyenne de tige chez *Pelargonium zonale* sous l'effet de lipides actifs pendant les quinze premiers jours.

1. — 24 h après l'apposition des lipides sur les blessures, des fuseaux translucides se dessinent autour des orifices.

2. — Vers le 4^e jour s'esquisse un minime allongement de certains orifices de blessure.

3. — Cet allongement devient plus net vers le 5^e ou le 6^e jour.

4. — Vers les 8^e-9^e jours on observe l'écartement des lèvres de la blessure.

5. — Cet écartement devient caractéristique vers les 10^e-12^e jours et au centre apparaît une masse blanchâtre.

6. — Vers le 15^e jour, cette masse blanchâtre néoformée emplit entièrement l'ovale ou le losange produit par l'éclatement des tissus externes.

encastrée dans la tige porteuse pendant des mois, voire des années, sans lui nuire apparemment (Pl. I, fig. 7). Cependant, nous avons pu observer la destruction de tiges entières par la nécrose de néoformations médullaires dont le développement avait été particulièrement rapide.

Il n'y a jamais régression de ces excroissances. Elles ne récidivent pas si l'on en pratique l'exérèse. Toutes les tentatives faites pour les greffer *in vivo* ont échoué.

II. — *RICINUS SANGUINEUS*

Le Ricin possède la particularité, déjà signalée par de nombreux auteurs, de réagir par la formation de cals médullaires de faible volume à des blessures même légères. Sur des plantes âgées de 2 à 5 mois, cultivées en serre, ils sont réguliers et peu développés. Chez les plantes vigoureuses cultivées en pleine terre, ils sont plus volumineux et constituent vers le 30^e jour un nodule susceptible d'obstruer le canal médullaire.

Par l'introduction de certains lipides étrangers dans les tissus blessés, nous avons obtenu, chez *Ricinus sanguineus*, en plus d'importantes réactions d'obstruction du canal médullaire, des néoformations externes. Ces résultats ont été observés grâce à l'emploi de deux procédés : applications externes et injections dans le canal médullaire.

A. — Applications externes

Ces expériences ont été généralement faites sur des plantes cultivées en serre réagissant très faiblement aux blessures. Si l'on dépose sur les orifices de blessure une huile ou une graisse active, un cal exubérant obstrue fréquemment la cavité médullaire centrale sur 2-3 cm. Le tissu néoformé est friable, blanchâtre, légèrement translucide ; son aspect évoque certaines cultures de tissus. Sa présence dans la cavité centrale n'entraîne pas l'éclatement des tissus superficiels (Pl. I, fig. 11 et 12).

La partie inférieure de la tige, constituée par l'ancien axe hypocotylé, réagit par la formation d'une masse translucide dans la moelle, pleine à

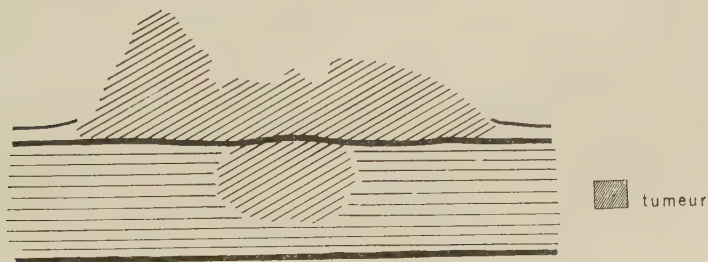


Fig. 2. — Schéma des réactions provoquées chez *Ricinus sanguineus* par l'application de lipides actifs sur un axe hypocotylé après blessures, au 153^e jour de l'expérience. La réaction médullaire est de faible importance, alors que l'hyperplasie corticale provoque à la surface de la plante une saillie sensiblement égale au diamètre de l'hypocotyle. Grandeur naturelle $\times 2$.



Fig. 3. — Schéma figurant les réactions corticales et médullaires de *Ricinus sanguineus* après applications externes de lipides actifs (A) et de simples emplâtres de lanoline pure anhydre (B). On remarque sur A que l'importance de la réaction corticale décroît au fur et à mesure qu'on monte vers les sommités caulinaires, tandis que la réaction médullaire s'accroît au contraire. En B, les réactions simplement cicatricielles demeurent très limitées.

ce niveau, tandis que les tissus externes se recouvrent d'importantes excroissances (Fig. 2).

Comme nous l'avons indiqué sur le schéma de la Fig. 3, cette réaction des tissus externes, en particulier du parenchyme cortical, s'atténue au fur et à mesure que l'on s'élève vers les sommités caulinaires, alors que la néoformation médullaire intra-cavitaire augmente de volume. Au niveau des premiers entrenœuds sous-apicaux, malgré l'importante réaction de la moelle, on ne remarque qu'un léger gonflement des tiges.

Les néoformations cessent de s'accroître vers la fin du second mois et commencent dès lors à se nécroser superficiellement. Jusque-là, elles n'avaient pas semblé gêner le développement de la plante, certaines inhibitions de croissance étant liées non à la présence de réactions tissulaires dans les tiges, mais à l'envahissement de l'apex par les lipides. Quand le processus nécrotique gagne en profondeur, les zones saines périphériques sont souvent attaquées, et leur nécrose entraîne la mort du végétal.

Ces néoformations ne récidivent pas et ne sont pas greffables.

B. — Injections

L'injection d'huiles ou de graisses dans la cavité centrale provoque dans les entrenœuds sous-apicaux une croissance régulière de la moelle qui réduit ou comble le canal médullaire. Cette réaction n'est pas spécifique ; elle peut être provoquée par une simple injection d'eau.

La moelle des entrenœuds médians et inférieurs ne réagit que faiblement aux injections de lipides, mais la surface des tiges se couvre — une dizaine de jours après l'injection de la plupart des huiles ou graisses — de minuscules verrucosités verdâtres, pointant comme des têtes d'épingles. Elles s'accroissent rapidement, prennent une teinte blanchâtre, provoquent la rupture de l'épiderme et laissent sourdre des gouttelettes grasses.

Sous l'effet des lipides actifs, ces verrucosités s'allongent dans le sens axial, deviennent ovalaires ou losangiques et ressemblent alors nettement à des lenticelles. Elles siègent sur les entrenœuds injectés, apparaissent rapidement sur les nœuds intermédiaires, sur les entrenœuds sous-apicaux non injectés, et même sur les sommités caulinaires (Pl. II, fig. 1 et 5).

Après six à huit semaines, les verrucosités confluent et donnent à la tige un aspect alvéolé (Pl. II, fig. 2, 3 et 4). Les lipides actifs déterminent en même temps, là où des verrucosités sont apparues, un fort épaississement de la tige, particulièrement au niveau des nœuds.

Si les sommités caulinaires ne sont pas atteintes par ce processus, la plante poursuit sa croissance normale (Pl. XIX, fig. 4) ; sinon la croissance s'arrête, des malformations apicales se manifestent (Pl. XIX, fig. 5 et 6) et, après quelques semaines, la tige se nécrose et pourrit.

III. — *NICOTIANA TABACUM*

Les orifices circulaires des piqûres initiales s'allongent dans le sens axial de la tige, brunissent, et leurs bords s'écartent légèrement, laissant parfois saillir une masse verdâtre de tissu néoformé.

Ces manifestations discrètes traduisent l'augmentation du volume de la moelle. Elles se stabilisent rapidement et ne nuisent pas au développement normal de la plante.

*
* *

Ces excroissances diverses proviennent de recloisonnements des parenchymes médullaire et cortical. Les autres tissus ne réagissent que faiblement ou irrégulièrement.

Nous envisagerons donc successivement les réactions de ces deux parenchymes en précisant, pour chacun, les principaux facteurs qui interviennent dans le processus hyperplasique. Nous tenterons de déterminer ensuite la nature de la fraction des lipides qui provoque de tels effets et nous décrirons dans un dernier chapitre les réactions affectant les autres tissus des tiges soumises aux expériences.

CHAPITRE 2

LES REACTIONS DU PARENCHYME MEDULLAIRE

Nous décrirons successivement les résultats obtenus sur *Pelargonium zonale*, *Ricinus sanguineus* et *Nicotiana tabacum*. Nous avons préféré faire une étude histologique et cytologique plus approfondie des réactions médullaires de *Pelargonium* en raison de leur caractère rigoureusement spécifique.

I. — PELARGONIUM ZONALE

Avant d'étudier les néoformations dont l'aspect morphologique vient d'être évoqué, il convient de rappeler brièvement les caractéristiques anatomiques et cytologiques de la tige de *Pelargonium zonale*.

Nous décrirons ensuite l'aspect anatomique des réactions médullaires provoquées par l'introduction de lipides actifs ; puis, après avoir précisé la répartition des lipides dans les tissus et les cellules — plus particulièrement dans la moelle — nous étudierons l'évolution du noyau et du chondriome.

A. — Structure normale et cicatrisation

Il est inutile de revenir sur l'anatomie de la tige de *Pelargonium* qui a été décrite par Christiane NOËL, dont nous reproduisons les schémas concernant la tige jeune (Fig. 4) et la tige adulte (Fig. 5).

Du point de vue caryologique, la moelle de la tige adulte, composée de grandes cellules arrondies, comporte parfois deux noyaux, mais, le plus souvent, un seul noyau uninucléolé par cellule. Ce noyau est normalement accolé à une paroi ; il est relativement volumineux (16-20 μ pour son plus grand diamètre), de type semi-réticulé, peu dense, à chromocentres collec-

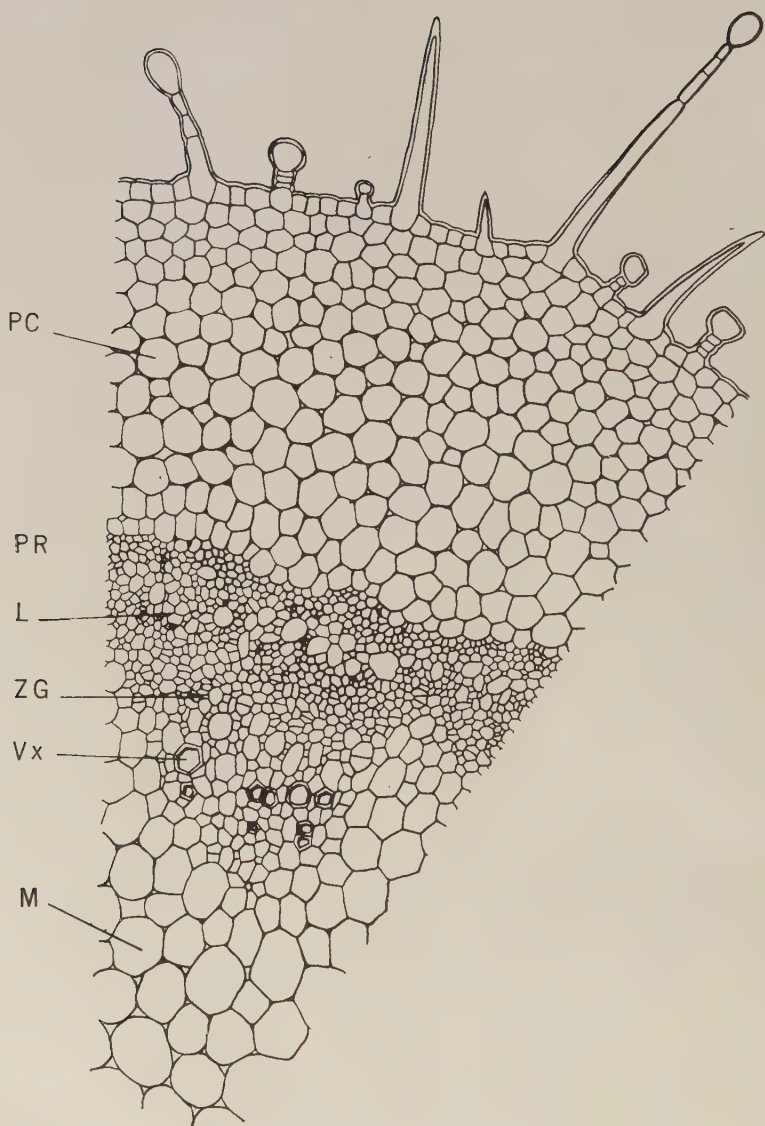


Fig. 4. — Coupe transversale pratiquée dans le second entrenœud sous-apical d'une tige de *Pelargonium zonale*. La tige est encore peu différenciée.

E, épiderme pourvu de poils ordinaires (PO) et des poils sécréteurs (PS) ; PC, parenchyme cortical ; PR, zone péricyclique formée de fibres dont les parois ne sont encore ni lignifiées, ni épaissies ; L, liber ; ZG, zone génératrice libéro-ligneuse ; Vx, vaisseaux ; M, moelle. (D'après Christiane NOEL, p. 105.)

tifs peu nombreux (4-5) et à chromocentres granuleux (12-15) se détachant avec netteté ; $2n = 18$ (1).

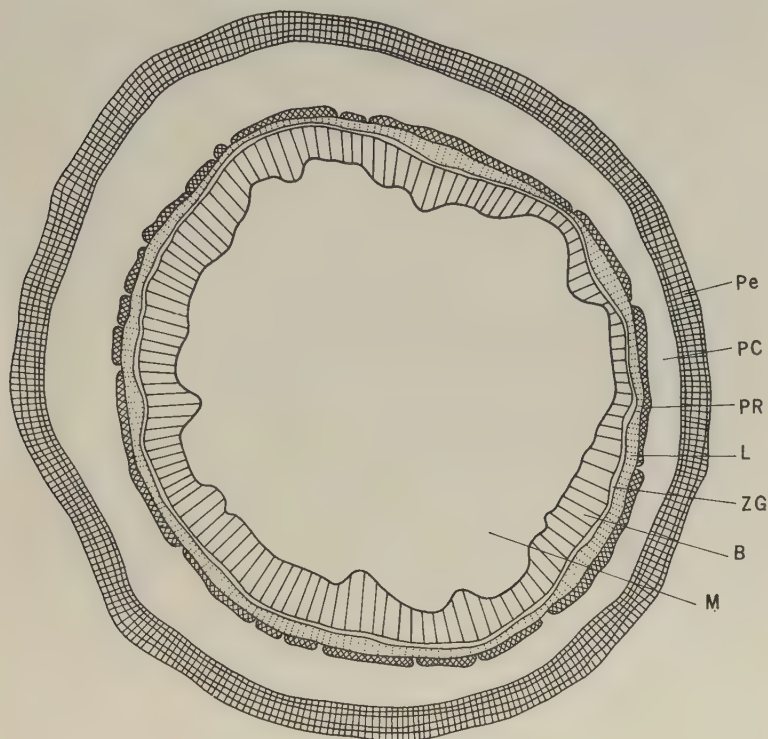


Fig. 5. — Schéma d'une coupe pratiquée dans une tige âgée de *Pelargonium zonale*.

On constate que la tige est bien plus différenciée que précédemment. L'épiderme s'est exfolié et a été remplacé par un périoderme (Pe). La zone périyclique (Pr) s'est sclérifiée. Le système conducteur est constitué par un anneau continu de bois (B) et un anneau continu de Libér (L) séparés par une zone génératrice libéro-ligneuse (Zg) ; les faisceaux vasculaires primitifs se distinguent sur le bord interne de l'anneau ligneux sous forme de protubérances. Le parenchyme cortical (PC) est peu abondant. La partie centrale de la tige est occupée par une moelle très développée (M). (D'après Christiane NOEL, p. 108.)

Quelques globules lipidiques peuvent être mis en évidence par la coloration au Noir Soudan dans les cellules du méristème apical, ainsi que dans les cellules procambiales et cambiales, autour des noyaux. On en remarque aussi dans le cytoplasme des cellules parenchymateuses, localisés irrégulièrement autour des plastides et à l'intérieur de ceux-ci. Cette

(1) Les noyaux de ce type sont décrits par C. DELAY (1947), pp. 157-58.

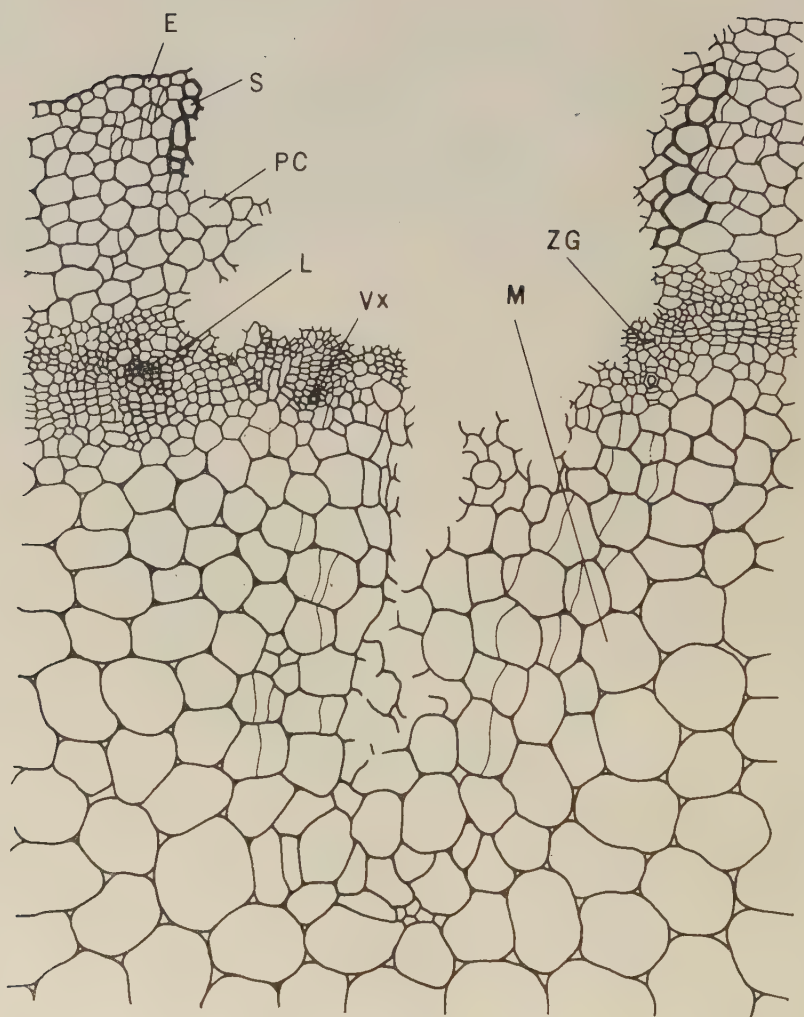


Fig. 6. — Coupe pratiquée dans une tige de *Pelargonium* ayant subi une piqûre aseptique. La coupe a été réalisée quatre jours après la piqûre. On constate que les cellules environnant la blessure ont déjà commencé à se recloisonner. E, épiderme ; PC, parenchyme cortical ; L, liber ; Vx, vaisseaux ; ZG, zone génératrice ; M, moelle ; S, région subérifiée. (D'après Christiane NOEL, p. 110.)

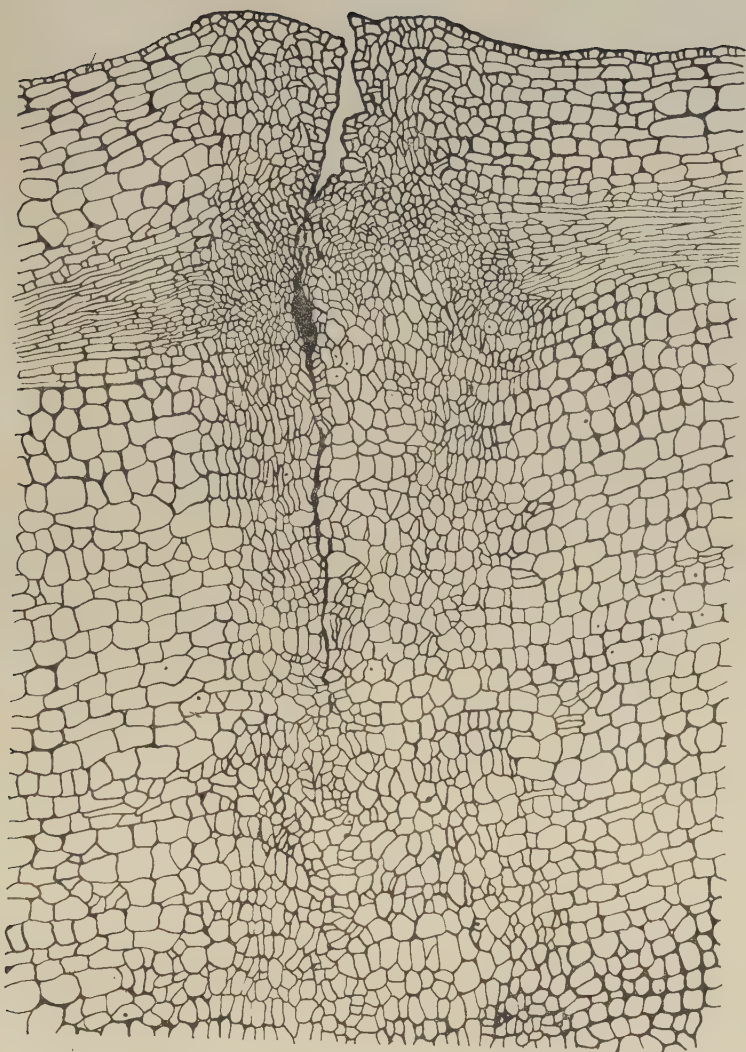


Fig. 7. — Coupe longitudinale dans une tige jeune de *Pelargonium* au 20^e jour après la blessure. La fente est déjà comblée dans la moelle ; les divisions ont cessé ; il n'interviendra plus de modifications ultérieures.

répartition correspond sensiblement à celle qui a été décrite pour *Bergenia cordifolia*, *Coleus blumei*, *Hedera helix* et *Ricinus communis* par Fl. Murray SCOTT (1955).

Une description de la cicatrisation après blessure a été donnée par Christiane NOEL : « Quatre jours après la blessure, on constate que le parenchyme cortical et la moelle commencent déjà à proliférer. En même temps, les éléments superficiels de l'écorce se subérifient. Au bout de seize jours,

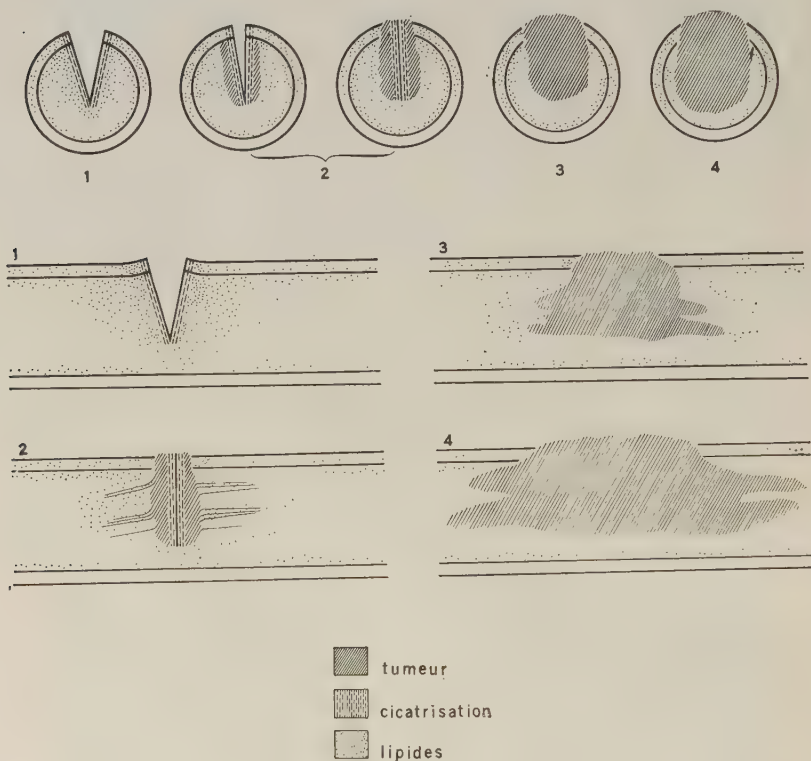


Fig. 8. — Schéma montrant l'évolution du processus tumoral chez *Pelargonium zonale* sur des coupes transversales et longitudinales aux différents stades.

1. — Premier stade ; processus cicatriciel ; diffusion des lipides.

2. — Deuxième stade ; sur les coupes transversales seulement sont figurées deux images, l'une marquant le début, l'autre la fin de ce deuxième stade.

On remarque sur la coupe longitudinale le recloisonnement d'assises médullaires isolées.

3. — Troisième stade ; la tumeur est déjà nettement constituée et sur la coupe longitudinale on note les digitations formant les avancées de la tumeur dans la zone saine.

4. — Quatrième stade ; tumeur ayant atteint son développement complet. On constate qu'il n'y a plus à ce stade de lipides dans la région saine aux extrémités axiales de la tumeur, du moins dans la partie centrale de la moelle.

la blessure est presque complètement comblée par un parenchyme cicatriciel formé de grandes cellules et que protège un peu de liège. Ce parenchyme cicatriciel est toujours homogène. Il ne renferme notamment aucun élément lignifié ; ses cellules ne sont pas disposées d'une manière quelconque, mais en files radiales. Il est surprenant de constater que ce tissu cicatriciel dérive seulement des parenchymes de l'organe et que le tissu cambial ne participe à peu près pas à son édification. En examinant les coupes pratiquées plus tardivement, on constate que la prolifération cesse dès que la blessure est comblée. »

Les Fig. 6 et 7 illustrent ces processus cicatriciels : au 4^e jour, la plaie est encore béante ; au 20^e jour, elle est entièrement comblée.

Les réactions nucléaires des tissus cicatriciels seront rapportées à l'occasion de l'étude caryologique des premiers stades du développement des tumeurs médullaires.

B. — Etude anatomique des néoformations médullaires

Le développement des tumeurs médullaires provoquées par des lipides actifs peut être schématisé en quatre stades au point de vue anatomique (Fig. 8).

PREMIER STADE (du 1^{er} au 5^e jour). — Près de la zone blessée, on observe des formations cicatricielles avec de nombreux recloisonnements épars dans la moelle (Fig. 8-1).

DEUXIÈME STADE (du 6^e au 15^e jour). — Des deux côtés de la blessure, parfois d'un seul, des assises médullaires se recloisonnent (Fig. 8-2 et Fig. 9). Les mitoses sont le plus souvent orientées suivant l'axe de la tige et sont suivies de la formation de cloisons transversales. Certaines cellules sont fortement hypertrophiées (Fig. 10).

TROISIÈME STADE (du 16^e au 30^e jour). — Plusieurs assises participent conjointement à la formation de groupes ou de nodules hyperplasiques intramédullaire (Fig. 8-3 et Fig. 11). La moelle saine se recloisonne à leur extrémité sous forme de digitations multiples (Fig. 12 et 13).

QUATRIÈME STADE (du 31^e au 60^e jour). — On ne distingue plus de groupes cellulaires hyperplasiés, ni de nodules, mais un cylindre, un cône ou un tronc de cône plus ou moins épais de cellules hyperplasiées, disposées anarchiquement, englobant çà et là un îlot de cellules normales ou hypertrophiées (Fig. 8-4 ; Pl. III, fig. 1, Pl. IV, fig. 1 et Pl. VI). Comme au stade précédent, la tumeur se prolonge, à ses extrémités axiales, dans la moelle saine par des assises de cellules recloisonnées (Pl. IV, fig. 2).

Dans le sens transversal, la néoformation semble limitée par une nappe de cellules normales isolant la tumeur du parenchyme non recloisonné (Pl. V, fig. 1 à 3).

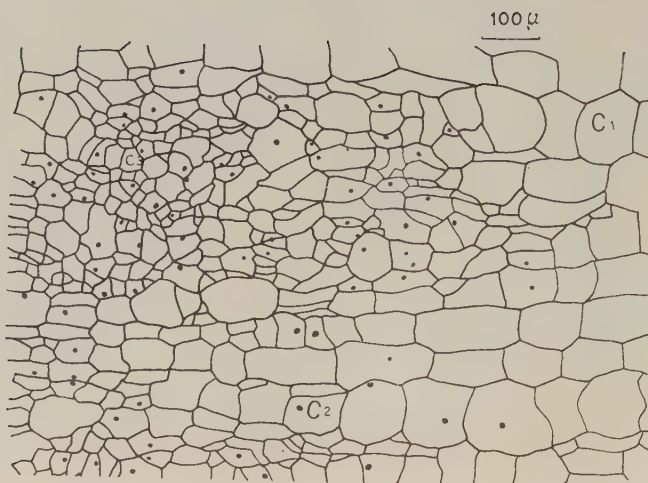


Fig. 9. — Tumeur médullaire au 10^e jour, coupe longitudinale aux confins du parenchyme non encore recloisonné et des assises hyperplasiées. On distingue encore dans ces assises des cellules qui ont subi un ou deux recloisonnements, des cellules néoformées de petite taille et à gros noyau.

C1, cellule médullaire normale non recloisonnée ; C2, cellule médullaire ayant subi déjà au moins un recloisonnement ; C3, cellule médullaire néoformée résultant de recloisonnements multiples.



Fig. 10. — Coupe longitudinale ; cellule hypertrophiée près de la blessure avec deux noyaux télophasiques ; 15^e jour.

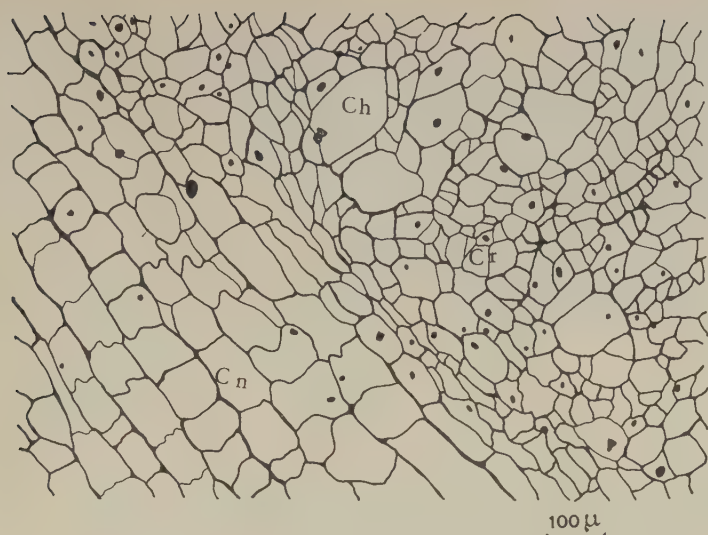


Fig. 11. -- Tumeur médullaire au 30^e jour ; coupe longitudinale. On remarque à gauche les cellules médullaires normales (Cn) qui ne sont pas atteintes par le processus réactionnel ; à droite, les assises recloisonnées ont fusionné pour constituer un tissu assez homogène où se détachent, parmi de nombreuses cellules recloisonnées (Cr), quelques cellules hypertrophiées (Ch).

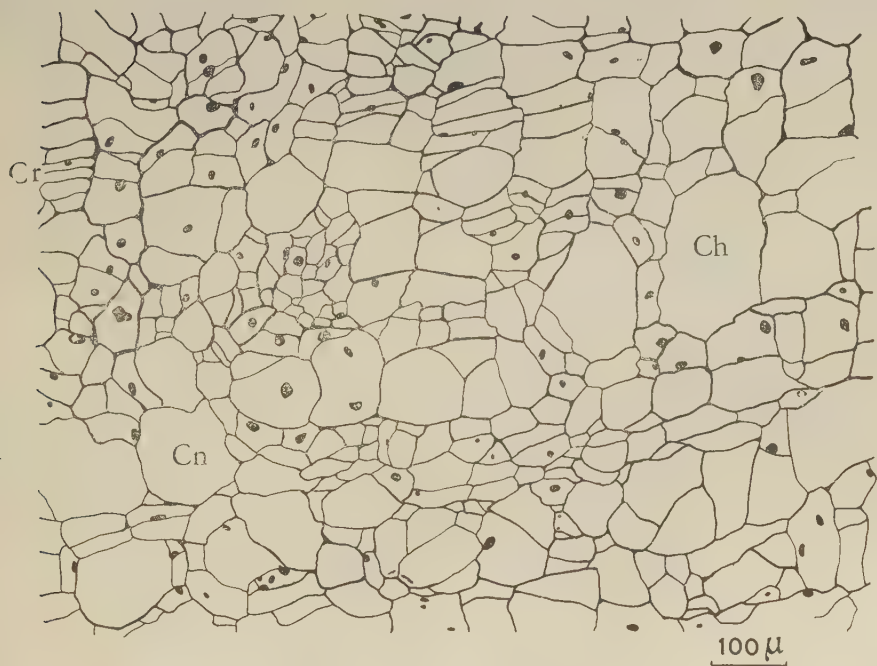


Fig. 12. — Tumeur médullaire au 24^e jour, coupe longitudinale ; on remarque nettement des assises composées de cellules activement recloisonnées (Cr) enserrant des cellules normales (Cn) ou hypertrophiées (Ch).



Fig. 13. — Tumeur médullaire au 24^e jour; coupe longitudinale à l'extrémité axiale de la tumeur vers l'apex de la tige; on remarque à gauche des cellules médullaires recloisonnées et à droite des cellules indemnes.



Fig. 14. — Tumeur médullaire âgée de 15 mois (Pl. 1-7), coupe longitudinale. On voit nettement trois îlots nodulaires constitués par des assises concentriques de cellules médullaires hyperplasiées, entourés eux-mêmes d'un nodule lignifié, au sein d'un parenchyme médullaire entièrement recloisonné.

Des plages vasculaires où la lignine se trouve répartie suivant des travées réticulées, sans rôle conducteur apparent, et sans rapport avec les éléments conducteurs, se différencient fréquemment dans ces tumeurs. De plus, comme il a été souvent observé dans les cellules parenchymateuses voisines d'une blessure (ULRICH, 1936), les parois de certaines cellules médullaires isolées se chargent aussi de lignine.

Une hyperplasie cambiale est parfois associée à la tumeur médullaire ; elle est constituée par des cellules organisées en files radiales et demeure très limitée.

En vieillissant, les néoformations médullaires ne suivent pas toutes la même évolution :

Certaines tumeurs âgées de quinze mois se trouvent exactement dans l'état anatomique des réactions obtenues vers le 50^e jour avec un parenchyme extrêmement recloisonné et hyperplasié sans aucune différenciation d'éléments ligneux ou lignifiés.

Dans d'autres cas, des nodules lignifiés se sont différenciés autour de certaines masses parenchymateuses qu'ils englobent plus ou moins ; la lignine s'y trouve répartie suivant des travées réticulées ou des plages à punctuations celluloseuses (Fig. 14).

C. — Répartition des lipides

L'introduction de certains lipides dans les parenchymes blessés des tiges de *Pelargonium zonale* a entraîné la formation des tumeurs médullaires dont nous venons de décrire brièvement l'anatomie. Nous avons qualifié de « lipides actifs » toutes les huiles et graisses qui se sont trouvées à l'origine de telles néoformations. Par contre, tous les lipides qui ne modifient pas le processus normal de la cicatrisation doivent être considérés comme « inactifs » et qualifiés comme tels.

Lipides actifs et inactifs pénètrent dans les tiges et diffusent dans les tissus.

Si aucune blessure n'est faite, ces lipides se répartissent dans les espaces intercellulaires et à l'intérieur des cellules, sans qu'on puisse noter une différence entre ceux qui sont actifs et ceux qui ne le sont pas.

Si les lipides sont introduits à la suite de blessures, la répartition des lipides actifs dans le parenchyme médullaire, au cours de l'évolution du processus hyperplasique, sera très différente de celle des lipides inactifs.

Nous avons pensé qu'il était préférable d'introduire, à la fin de notre exposé concernant la répartition des lipides actifs, quelques notions sur la répartition des lipides inactifs. De même, nous avons jugé utile de décrire cette répartition pour l'ensemble des tissus de la tige et de ne pas nous limiter au parenchyme réactif.

1°) *Répartition des lipides actifs*

Aussitôt après leur introduction dans les canaux des blessures, les huiles et les graisses, selon leur viscosité, diffusent plus ou moins rapidement dans les tissus. Nous avons plus particulièrement étudié ce problème avec une graisse humaine, d'origine mammaire, fluide à la température du laboratoire. La plupart des huiles et graisses actives subissent la même répartition que nous décrirons successivement dans les tissus, les cellules et les noyaux.

a) RÉPARTITION INTRATISSULAIRE

Elle s'opère essentiellement par diffusion des lipides dans les espaces intercellulaires et les vaisseaux. Les forces capillaires qui interviennent provoquent une mobilisation rapide de la graisse qui peut être mise en évidence, quinze à vingt minutes après le début de l'expérience, dans les espaces intercellulaires des parenchymes, notamment de l'écorce, jusqu'à 0,2-0,3 cm de la plaie, et dans certains vaisseaux brisés par la blessure.

Durant les heures suivantes, la pénétration dans les parenchymes s'accroît. Après 24 heures, les lipides ont largement diffusé dans les assises internes de l'écorce et périphériques de la moelle (Fig. 8-1, Fig. 15 et 16). Par cette voie, ils ont déjà atteint les nœuds voisins dont les parenchymes sont envahis. Ils se sont également répandus par les espaces intercellulaires au cœur de la moelle de part et d'autre de la blessure (Pl. VII, fig. 2), et dans le parenchyme vasculaire. Le cambium ne renferme que quelques rares granulations soudanophiles.

Après 48 heures, ces divers phénomènes se sont affirmés : les cellules parenchymateuses sont gainées d'un manchon lipidique par suite de l'envahissement complet des méats et des espaces intercellulaires disjoints au long des lignes de pénétration (Fig. 17 et 18 ; Pl. VII, fig. 1, 4 et 5).

Aux 4^e-5^e jours, des différences considérables se manifestent d'un entre-nœud à l'autre dans la répartition intramédullaire des lipides. Certaines préparations montrent une imprégnation sur un ou deux centimètres de chaque côté de la blessure dans le sens de l'axe de la tige ; d'autres, un encombrement discret du parenchyme, localisé d'un seul côté de la blessure ; d'autres encore, une progression irrégulière donnant l'image de digitations envahies de lipides entre lesquelles figurent des espaces qui en sont complètement dépourvus. De nombreux vaisseaux du bois présentent soit une obstruction complète de leur cavité centrale par les lipides, soit une localisation de ceux-ci dans les parois cellulodiques, entre les ornements lignifiés (Pl. VIII, fig. 3).

Vers le 6^e jour, on constate que les lipides n'ont généralement pas pénétré dans la moelle au-delà du fond de la blessure : dans le prolongement

de la piqure, les travées cellulaires non lésées en sont pratiquement dépourvues. Les faisceaux libériens apparaissent également sans éléments soudanophiles.

Vers les 9^e-10^e jours, la graisse a intensément imprégné le parenchyme médullaire et forme de véritables gaines autour des assises cellulaires. C'est dans cette région que les recloisonnements sont déjà apparus. La masse médullaire délimitée par l'envahissement lipidique constitue dès ce moment la **région prétumorale** qui va servir de point de départ à la néoformation, et en forme le foyer central.

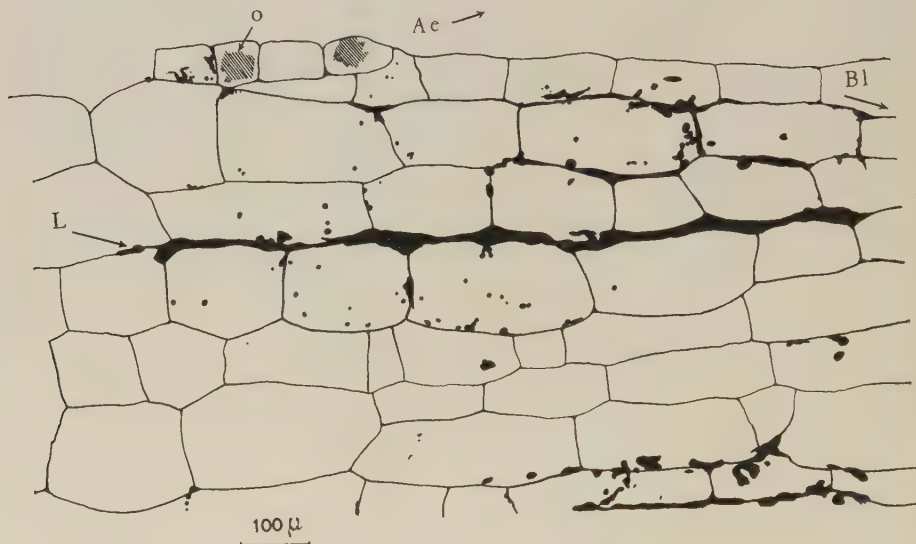


Fig. 15. — Pénétration des lipides dans l'écorce de *Pelargonium zonale* après 24 heures. Les lipides (L) s'infiltrent par les espaces intercellulaires partant de la zone de blessure (Bl) et pénètrent déjà à l'intérieur de certaines cellules. Près de l'assise sous-épidermique (Ac) certaines cellules renferment des macles d'oxalate de Ca (O). Coupe longitudinale.

A partir des 12^e-15^e jours, la progression des lipides ne s'opère plus qu'à un rythme extrêmement lent aux extrémités axiales de la tumeur en formation, dont les assises, envahies par les lipides, sont le siège de recloisonnements incessants par lesquels elle s'accroît.

Toutes nos expériences nous ont amené à constater que les dimensions de la future tumeur médullaire sont déterminées par l'étendue de l'envahissement lipidique initial.

L'aspect général des préparations se modifie peu jusque vers le 25^e jour : dès ce moment, le stock lipidique de la région hyperplasiée diminue en



Fig. 16. — Pénétration des lipides au bout de 24 heures dans les assises pérимédullaires (Apm) de la moelle chez *Pelargonium zonale* ; coupe longitudinale. Les lipides (L) provenant de la zone de blessure (Bl) se sont répandus par les espaces intercellulaires jusqu'aux nœuds voisins beaucoup plus que vers la partie centrale de la moelle (Mc).

apparence. Les graisses localisées dans les espaces intercellulaires sont refoulées par le tissu néoformé. En dehors de la tumeur, les lipides restent emprisonnés dans les méats et les espaces membranaires distendus des parenchymes, diffusant aux extrémités supérieure et inférieure de chaque entrenœud au long des assises les plus internes de l'écorce et les plus externes de la moelle. Tous les tissus sont imprégnés de graisse, à l'exception du liber.

A partir des 50°-60° jours, la région hyperplasiée apparaît, aux faibles grossissements microscopiques, presque dépourvue de lipides, localisés isolément dans les méats, alors que tous les tissus voisins, non recloisonnés, en renferment.

L'arrêt de la croissance de la tumeur semble coïncider avec la disparition presque complète des lipides qui ne sont plus mis en évidence par le Noir Soudan.

b) RÉPARTITION INTRACELLULAIRE

Les lipides pénètrent dans le cytoplasme et dans les noyaux.

1. Localisation dans le cytoplasme

Six ou sept heures après le début de l'expérience, une pénétration intracellulaire se précise dans la moelle. Des globules lipidiques libres peuvent être mis en évidence dans le cytoplasme au niveau des éléments figurés et tout au long de la membrane ectoplasmique après 24 heures (Pl. VIII, fig. 1, 2). Des globules soudanophiles sont nettement visibles dans la calotte plastidiale de certains grains d'amidon (Pl. VIII, fig. 4).

Après 48 heures, on remarque de nombreux globules lipidiques dans le cytoplasme des cellules médullaires, sous forme de gouttelettes et d'éléments ressemblant à des mitochondries. Dans de nombreuses cellules, les grains d'amidon sont gainés d'un liséré soudanophile constitué par des gouttelettes grasses juxtaposées, ou noyés dans une masse lipidique (Fig. 17 et 18).

Il est exceptionnel d'observer des globules lipidiques dans la grande vacuole centrale des cellules médullaires ou corticales.

La pénétration des lipides dans les cellules du parenchyme cortical se produit aussi rapidement que dans les cellules de la moelle et leur répartition y est analogue.

Ces phénomènes s'accroissent dans les jours qui suivent et atteignent leur maximum d'intensité vers les 12°-15° jours. A ce moment, la pénétration intracellulaire des lipides dans toute la région médullaire, où les recloisonnements ont commencé à se produire, est pratiquement achevée. Les lipides se trouvent alors répartis sous forme de gouttelettes aisément colorables par le Noir Soudan :



Fig. 17. — Pénétration des lipides dans les cellules médullaires (Cm) après 48 h. Coupe longitudinale. Les lipides (L) provenant des espaces intercellulaires (Ei) où ils se sont infiltrés en les dilatant ont pénétré dans les cellules et se sont répartis notamment autour des grains d'amidon (A)



Fig. 18. — Cellules voisines de celles de la Fig. 17, mais ici certains amyloplastes (A) sont littéralement noyés dans une masse soudanophile (L) provenant des espaces intercellulaires (Ei). Coupe longitudinale.

- dans la membrane ectoplasmique ;
- sur les éléments figurés (mitochondries et plastes) ;
- autour des grains d'amidon ;
- autour de nombreux noyaux.

Cet aspect se modifie peu jusque vers le 25^e jour. Dès ce moment, les lipides deviennent plus difficilement visibles dans les cellules recloisonnées et l'on ne remarque plus vers les 50^e-60^e jours, dans la région fortement hyperplasiée, que de fines gouttelettes grasses isolées dans le cytoplasme de certaines cellules.

En dehors de la région hyperplasiée, la répartition intracytoplasmique des lipides demeure sans modification pendant de nombreux mois, conservant l'aspect observé vers les 12^e-15^e jours.

2. Localisation dans les noyaux

En étudiant la répartition intracellulaire de la graisse active, nous avons été amené à constater que certains lipides étrangers pénètrent dans les noyaux. Ce fait ne paraît pas avoir été signalé jusqu'à présent.

Quarante-huit heures après le début de l'expérience, on remarque dans certains noyaux des cellules médullaires, même à une distance relative de la blessure, de fines granulations lipidiques libres dans l'enchylème ou paraissant fixées sur des éléments chromocentriques (Pl. IX, fig. 1). Dans les cellules médullaires voisines de la blessure, les chromosomes, aux divers stades de la mitose, peuvent être colorés par le Noir Soudan (Pl. IX, fig. 4).

Vers les 4^e-5^e jours on peut observer, dans de nombreux noyaux des différents tissus envahis par les lipides, des éléments soudanophiles. Une partie du nucléole est nettement colorable par le Noir Soudan sur les préparations non déshydratées ; l'auréole périnucléolaire est souvent ornementée de granulations lipidiques (Pl. IX, fig. 2, 3, 5). Sur les préparations déshydratées, au contraire, la partie centrale du nucléole n'est plus colorable par le Noir Soudan, alors que l'auréole périnucléolaire est fortement soudanophile.

Vers les 12^e-15^e jours, de nombreux noyaux de la région médullaire, où se déroule le processus hyperplasique, renferment des éléments soudanophiles.

Lors des mitoses, les chromosomes, souvent gainés d'une pellicule lipidique, sont colorables par le Noir Soudan ; le nucléole est bleuté (Pl. IX, fig. 6 et 7).

Au 25^e jour, on observe déjà moins de noyaux renfermant des éléments soudanophiles dans la région hyperplasiée ; cependant, la plupart des nucléoles sont encore nettement colorables par le Noir Soudan.

A partir des 50^e-60^e jours, on ne peut plus mettre en évidence que de rares éléments soudanophiles dans le parenchyme médullaire hyperplasié.

Cependant, aux forts grossissements microscopiques, on voit encore dans ce tissu quelques noyaux avec des granulations soudanophiles dans l'enchylème ou contre l'auréole périnucléolaire.

Les procédés de démasquage des lipides permettent cependant à ce stade des colorations plus intenses par le Noir Soudan tant des nucléoles que de granulations intranucléolaires et intranucléaires, ainsi que des chromosomes (Pl. IX, fig. 8 et 9).

Nous avons résumé dans le tableau I les réactions du nucléole dans la région cicatricielle, la région pré tumorale et la tumeur. Ces réactions sont inconstantes, mais permettent cependant de considérer le nucléole comme une zone de passage pour les lipides provenant soit du noyau lui-même, soit de l'extérieur. C'est ainsi que peuvent s'interpréter notamment les réactions positives obtenues dans des régions cicatricielles où la lanoline utilisée sur les témoins ne paraît pas avoir pénétré.

Par la suite, il est exceptionnel de voir dans les noyaux des régions hyperplasiées des éléments soudanophiles sans démasquage préalable.

TABLEAU I

EXPÉRIENCE	Noir Soudan	Pyridine Noir Soudan	Lugol fort Noir Soudan	Lugol fort Pyridine Noir Soudan
Blessures 7 ^e jour	—	—	—	—
Blessures + Lanoline 10 ^e jour	—	—	—	—
Blessures + Lanoline 13 ^e jour	—	—	—	—
Blessures + Lanoline 17 ^e jour	—	—	+	—
Blessures + Lanoline 90 ^e jour	—	—	près de la fente —	—
Blessures + graisse mammaire — 7 ^e jour	—	—	+	—
Blessures + graisse mammaire — 9 ^e jour	—	—	+ —	—
Blessures + graisse mammaire — 11 ^e jour	—	—	+	—
Blessures + graisse mammaire ou abdominale 90 ^e jour	+	—	+	—

Réactions du nucléole chez *Pelargonium zonale*
après fixation au liquide de Helly. — Démasquage des lipides.

Les éléments lipidiques que nous avons mis en évidence dans les noyaux, comme ceux du cytoplasme, ne constituent pas des artefacts.

Nous avons pu nous en assurer, non seulement en utilisant des préparations témoins, passées dans des solvants des graisses avant la coloration, mais en comparant la région médullaire hyperplasiée, la région médullaire envahie de lipides et non réactive, avec la région médullaire non envahie et non réactive sur de mêmes préparations.

Il convenait également d'éliminer les artefacts provoqués par les lipides figurant dans le cytoplasme voisin du noyau ou accolé à la membrane nucléaire. Nous n'avons considéré comme renfermant des lipides étrangers que les noyaux reposant sur une couche cytoplasmique homogène, dépourvue d'éléments soudanophiles et à l'intérieur desquels — par le jeu de la vis micrométrique — des granulations soudanophiles sont visibles, en particulier dans le nucléole, ou dans l'auréole périnucléolaire.

2°) Répartition des lipides inactifs

Certains lipides inactifs, tels l'huile d'amandes douces ou l'huile d'olive, subissent exactement les mêmes phénomènes de diffusion tissulaire, de pénétration intracellulaire, avec la double localisation intracytoplasmique et intranucléaire, que les huiles et graisses actives.

Le tableau de leur répartition est le même que pour les huiles et graisses actives aux 12^e-15^e jours et demeure tel pendant des mois, voire une année entière, sans qu'aucune métabolisation apparente n'intervienne. Il convient de signaler toutefois que les globules lipidiques intranucléaires cessent d'être visibles au bout de quelques semaines.

La répartition est identique lorsque des lipides sont introduits dans les tiges par de simples badigeonnages ou l'application de manchons de coton imbibés n'ayant provoqué que des lésions épidermiques.

D'autres lipides inactifs, tels les huiles de foie, subissent la même répartition tissulaire, mais pénètrent faiblement dans les cellules et n'ont pu être observés dans les noyaux.

Certains lipides inactifs, tels la lanoline pure ou hydratée, le beurre de Karité, ainsi que des huiles minérales purifiées, ne pénètrent pas dans les cellules. Ces lipides et ces huiles minérales subissent la répartition tissulaire que nous avons décrite pour la graisse active, mais demeurent indéfiniment dans les espaces intercellulaires distendus (1).

Certaines huiles industrielles tirées des végétaux (tall-oil, métil-oil) ne pénètrent dans les cellules qu'en raison de leur toxicité. Leur localisation sous forme de flaqes intracytoplasmiques et intranucléaires est incompatible avec le maintien de la vie.

Ces différences importantes dans la pénétration intracellulaire et intra-

(1) Nos expériences sur la diffusion des huiles minérales et les résultats obtenus concernant leur absence de pénétration dans les cellules rejoignent les travaux mentionnés dans notre historique, p. 169.

nucléaire des lipides d'origine humaine, animale et végétale, nous ont permis d'établir entre eux une classification.

3°) *Classification des lipides en fonction de leur pénétration et de leurs effets*

Les lipides ont été classés suivant la facilité et l'importance de leur pénétration intracellulaire. D'une manière générale, nous avons pu observer que la pénétration intracellulaire et la pénétration intranucléaire vont de pair. Nous avons classé les huiles et les graisses, cependant, selon l'importance de leur pénétration intracellulaire, car il est très difficile d'établir des différences, même qualitatives, pour la pénétration intranucléaire des nombreux lipides utilisés. Nous ne disposions, pour opérer une telle classification, d'aucun critère objectif, et nous avons dû nous contenter de l'appréciation tirée de l'examen de nombreuses préparations. Tels que nous les présentons, et malgré leur imperfection, les tableaux II et III, le premier pour les lipides humains et animaux, le second pour les lipides végétaux, les huiles végétales industrielles et les huiles minérales, permettent d'exposer brièvement les résultats de nombreuses expériences.

Les résultats essentiels fournis par ces tableaux sont les suivants :

— Pour un même degré de pénétration, les graisses humaines et animales provoquent des hyperplasies, sinon plus intenses, du moins plus constantes que les lipides végétaux.

— Les effets des huiles végétales actives sont très variables d'un échantillon à l'autre, pour des huiles de même origine.

— Les graisses d'origine humaine sont actives, qu'elles soient extraites de tissus cancéreux ou de tissus sains. Nous n'avons pu mettre en évidence, au cours de nos expériences, aucune substance lipidique ou liposoluble, extraite de tissus cancéreux, exerçant sur les plantes une action spécifique.

— Toutes les graisses humaines ne sont pas également actives. Nous avons pu remarquer que des graisses extraites du foie (partie saine et région cancéreuse) n'avaient pas déterminé de réaction hyperplasique. Les expériences faites ont été cependant trop fragmentaires pour que nous puissions donner à cette conclusion un caractère définitif. Il est néanmoins intéressant de rapprocher ces résultats négatifs de ceux, négatifs également, de toutes les expériences faites avec des huiles de foie de poissons.

— Les graisses humaines pénètrent aisément dans les cellules médullaires de *Pelargonium zonale*, et dans leurs noyaux, de même que certaines huiles végétales actives, telles l'huile de pépins de raisins, l'huile de grignons d'olive. Cependant les huiles d'olive, de coton, d'amandes douces qui sont aussi bien absorbées que les précédentes, n'entraînent, à côté du processus cicatriciel dû aux blessures, que des nécroses partielles de la

TABLEAU II

HUILES ET GRAISSES	Pénétration intracellulaire	Néoforrnations médullaires	Cicatrisations	OBSERVATIONS
Graisse d'épithélioma mammaire	++	++		extraite par l'alcool, l'éther de pétrole, par compression
Graisse provenant des tissus voisins des épithéliomas mammaires	++	++		même activité quel que soit le mode d'extraction
Graisse mammaire normale d'origine humaine	++	++		<i>idem</i>
Graisse abdominale humaine	++	++		<i>idem</i>
Graisse hépatique humaine	++	—	CN	extraite par l'éther de pétrole de la région saine et d'un épithélioma
Graisse mammaire de bœuf	++	++		extraite par l'éther de pétrole commerciale
Huile de phoque	++	++		commerciales
Huiles de spermacéti (pâle et raffinée)	++	++		commerciales
Huile de poissons entiers	+	++		commerciales
Huiles de sardine (brute et raffinée)	+	++		commerciales
Huile de requin	+	—	CN	commerciales
Huiles de foie de morue	+	—	CN	médicinales et industrielles
Huile de foie de poissons	+	—	CN	commerciales
Huiles de foies de raies, de lamie et de grande roussette	+	—	CN	extraites par compression
Lanoline pure anhydre et hydratée	—	—	C	

Huiles et graisses humaines et animales introduites dans des blessures de tige chez *Pelargonium zonale* et classées suivant l'importance de leur pénétration intracellulaire.

++ : pénétration intracellulaire importante ou forte réaction hyperplasique de la moelle intéressant l'entrecœur entier.
 ++ : pénétration intracellulaire moyenne ou réaction hyperplasique assez importante intéressant la moitié de l'entrecœur.
 + : pénétration intracellulaire faible ou réaction hyperplasique modérée localisée autour de la blessure.
 — : absence de pénétration intracellulaire ou absence de réaction hyperplasique.

C : cicatrisation simple.

CN : cicatrisation accompagnée de nécroses partielles.

TABLEAU III

HUILES ET GRAISSES	Pénétration intracellulaire	Néofonnations médullaires	Cicatrisations	OBSERVATIONS
Huile de pépins de raisins	++	++		commerciale
Huile de grignons d'olives	+++	+++		<i>idem</i>
Huile de lin	+++	+		<i>idem</i> , activité inconstante selon les échantillons
Huile de colza	+++	+		<i>idem</i>
Huile d'arachide	+++	+		huiles commerciales
Tail-oil bidistillé	+++	—	N	huile indust. fortement toxique
Métal-oil	+++	—	N	<i>idem</i>
Huile de germe de blé	+++	—	CN	cambiforme isolant les zones nécrosées
Huile d'olive	+++	—	C	huiles commerciales et purifiées
Huile de coton	+++	—	CN	huile très teintée ; nécroses éparses dans la moelle
Huile d'amandes douces	++	—	C	huile pharmaceutique purifiée
Huile de palme raffinée	++	—	C	provoque des hyperplasies can- biales et vasculaires
Huile de palmiste	++	—	C	<i>idem</i>
Huile de maïs brute	+	++		commerciale ; activité inconstante selon les échantillons
Huile de soja	+	+		commerciale
Huile de ricin	+	+		commerciale et pharmaceutique activité inconstante
Huile d'aillette	+	+		commerciale ; hyperplasie de la moelle formant des arcs réguliers concentriques
Huile de palme brute	++	+		extraite, fortement teintée
Huile d' <i>Aleurites montana</i>	++	—	CN	commerciale
Beurre de Karité	—	—	CN	solide à la T° du laboratoire
Huile de paraffine	—	—	C	commerciale et pharmaceutique
Huile de vaseline	—	—	C	<i>idem</i>
Vaseline pure	—	—	C	<i>idem</i>

Huiles et graisses végétales, industrielles et minérales introduites dans des blessures de tige chez *Pelargonium zonale* et classées suivant l'importance de leur pénétration intracellulaire.

Signes identiques à ceux du tableau n° 2.

Signes supplémentaires : ++ : pénétration faible et inconstante ou réaction hyperplasique inconstante n'intéressant que 30 à 40 assises cellulaires de part et d'autre de la blessure.

N : nécroses,

moelle. Inversement les huiles de poissons entiers, qui pénètrent faiblement dans les cellules et les noyaux, n'en déterminent pas moins la formation d'importantes tumeurs médullaires.

— Les huiles minérales sont généralement demeurées sans effets. Tout au plus ont-elles déterminé dans quelques cas une réaction cicatricielle plus intense isolant vers l'extérieur un fragment de tissu nécrosé. Les colorations au Noir Soudan mettent en évidence ces huiles, en mauve, uniquement dans les espaces intercellulaires.

En résumé.

De nombreux lipides d'origines humaine, animale et végétale diffusent dans les tissus des tiges de *Pelargonium zonale*, se répandent dans les espaces intercellulaires, pénètrent dans les cellules et s'y localisent dans le cytoplasme et les noyaux.

Introduits dans les tiges à la suite de blessures, certains lipides seulement déterminent la formation d'hyperplasies médullaires d'importance variable. L'étude de ces phénomènes a occasionné un examen détaillé de la répartition intratissulaire et intracellulaire des lipides actifs.

Il convient d'insister tout particulièrement sur la pénétration intranucléaire des lipides d'origine étrangère qui ne paraît pas avoir été signalée jusqu'à présent.

D. — Etude cytologique

Lorsqu'on blesse profondément une tige de *Pélargonium*, les processus cicatriciels se déroulent activement pendant les quinze premiers jours.

Si l'on ajoute sur les blessures des lipides actifs, pendant cette même période on voit se constituer, à côté du processus cicatriciel de comblement, le début de la réaction hyperplasique de la moelle.

Nous avons divisé la description des phénomènes cytologiques en deux parties : la première concerne la formation de la réaction hyperplasique durant les quinze premiers jours et comporte une comparaison avec les phénomènes cicatriciels étudiés sur des tiges témoins n'ayant subi que des blessures ; la seconde concerne les stades avancés de la réaction hyperplasique.

1°) *Etude caryologique des premiers stades*

Nous avons suivi l'évolution caryologique de la réaction hyperplasique en la comparant à celle de la réaction cicatricielle : quatorze *Pélargo-*

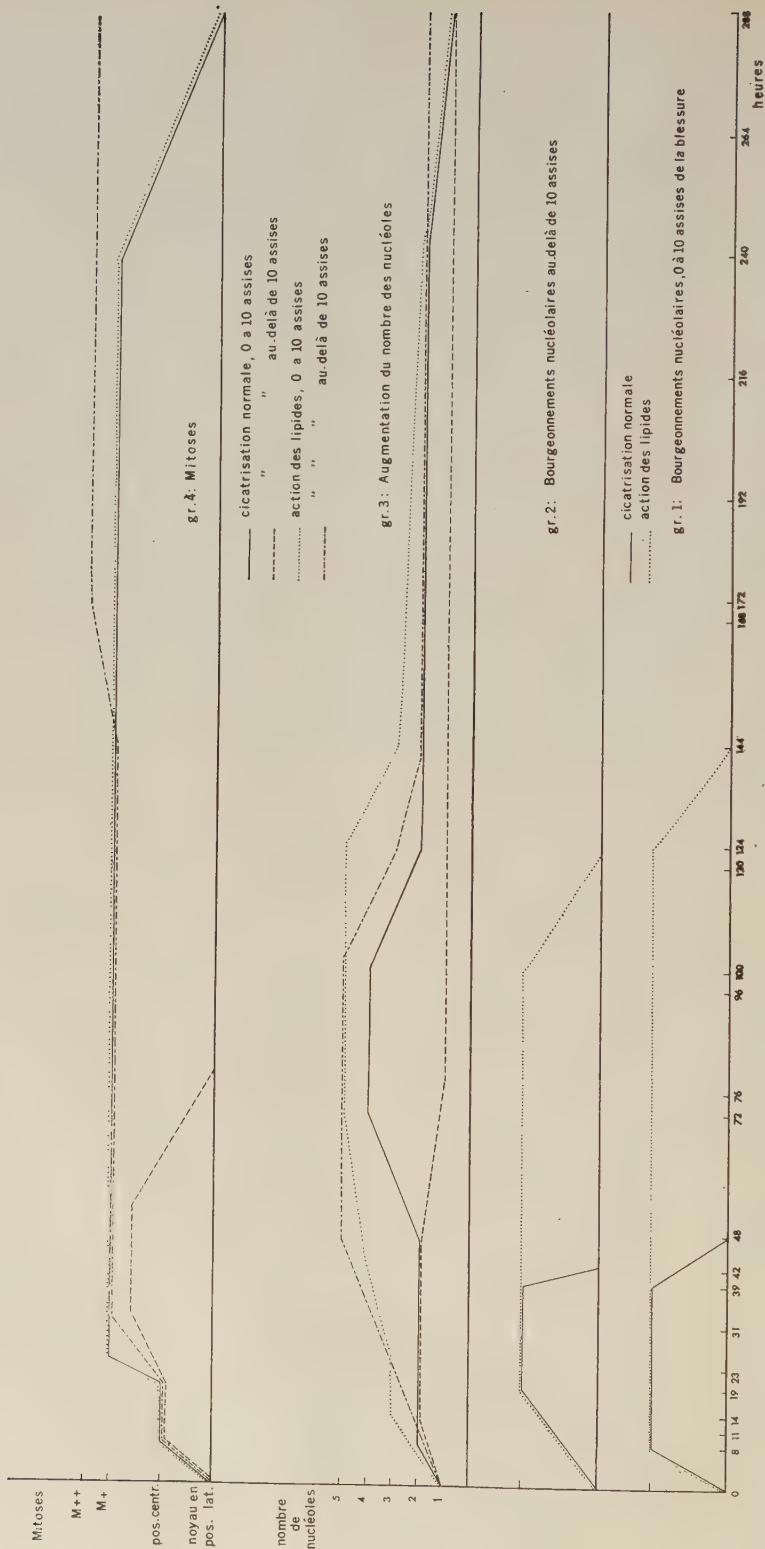


TABLEAU IV

niums ont subi dans leurs entrenœuds 164 blessures recouvertes d'emplâtres lanolinés de graisse d'épithélioma mammaire. Parallèlement, douze Pélargoniums témoins reçurent 157 blessures recouvertes d'emplâtres de lanoline pure anhydre. Des fixations au liquide de Helly ont été faites sur 4 à 8 objets à des stades rapprochés jusqu'au 12^e jour ; les préparations ont été colorées selon la méthode de Feulgen et par l'hématoxyline ferrique.

Les résultats de cette étude font l'objet du Tableau IV où se trouvent exprimées, pour la région cicatricielle (jusqu'à dix assises autour de la blessure) et pour la région prétumorale (au-delà de dix assises), les réactions qui affectent durant les douze premiers jours le nucléole et la mitose.

Les modifications des éléments chromocentriques, l'augmentation de volume de certains nucléoles ne peuvent s'exprimer graphiquement.

a) LE NUCLÉOLE.

Avant les premières mitoses, pendant que les noyaux, normalement accolés aux parois, viennent en position centrale dans les assises voisines de

TABLEAU IV

LE GRAPHIQUE 1 exprime les bourgeonnements nucléolaires dans la région cicatricielle (0 à 10 assises de la blessure). Ces bourgeonnements commencent vers la 8^e heure pour cesser au bout de 48 h dans la cicatrisation normale et vers la 14^e heure s'il y a adjonction d'un lipide actif.

LE GRAPHIQUE 2 exprime le bourgeonnement nucléolaire dans la région prétumorale (au-delà de 10 assises de la blessure). Dans le cas de la cicatrisation normale ces bourgeonnements, qui apparaissent vers la 19^e heure, cessent vers la 42^e heure, alors qu'ils se poursuivent jusque vers la 124^e heure sous l'effet des lipides actifs.

SUR LE GRAPHIQUE 3 figure l'augmentation du nombre des nucléoles dans la zone cicatricielle et la région prétumorale :

— *Zone cicatricielle* : dans la *cicatrisation normale*, leur nombre passe à deux par noyau vers les 8^e-10^e heures, puis s'élève à 3-4 entre 48 h et 76 h pour certains noyaux, revient ensuite à 2 vers 120-124 h, puis à l'unité à 288 h ;

sous l'effet des lipides actifs, l'augmentation est plus nette : dès 14-15 h on note de nombreux noyaux à 3 nucléoles, puis vers 48 h à 4-5 et 6 nucléoles ; à partir de la 124^e heure environ le nombre des nucléoles par noyau redevient progressivement normal et l'unité est retrouvée vers 288 h.

— *Région prétumorale* : dans la *cicatrisation normale*, on relève vers la 19^e heure quelques noyaux à deux nucléoles ; l'unité est rétablie entre 48 et 76 h ;

sous l'effet des lipides actifs, on observe une augmentation croissante du nombre des nucléoles jusqu'à 48 h (jusqu'à 5-6 pour certains noyaux et parfois même davantage), puis une diminution de leur nombre apparaît entre 100 et 124 h avec une régulation conservant de nombreux noyaux à 2 nucléoles correspondant à l'activité mitotique intense de cette région.

Pour les mitoses, LE GRAPHIQUE N° 4 montre qu'elles se manifestent entre 19 et 31 h aussi bien dans la zone cicatricielle que dans la région prétumorale, mais tandis que dans le processus de cicatrisation normale les mitoses éparses dans la moelle cessent dès 76 h et celles de la zone cicatricielle vers 288 h, sous l'effet des lipides actifs celles-ci, devenues de plus en plus nombreuses, se poursuivent dans la région prétumorale bien au-delà de 288 h.

la blessure, on observe des bourgeonnements nucléolaires (Tableau 4, gr. 1), puis une augmentation du nombre des nucléoles (T. IV, gr. 3 ; Pl. X, fig. 2, 3, 4).

Dans la région prétumorale, les mêmes phénomènes se produisent et se prolongent davantage (T. IV, gr. 2 et 3).

Sous l'action des lipides actifs, dès la 8^e heure, le nucléole de certains noyaux proches de la blessure augmente considérablement de volume. De tels nucléoles, que l'on retrouve pendant toute la période étudiée, atteignent fréquemment 4 à 6 μ de diamètre et présentent des cavernes (Pl. X, fig. 5 et Fig. 19).

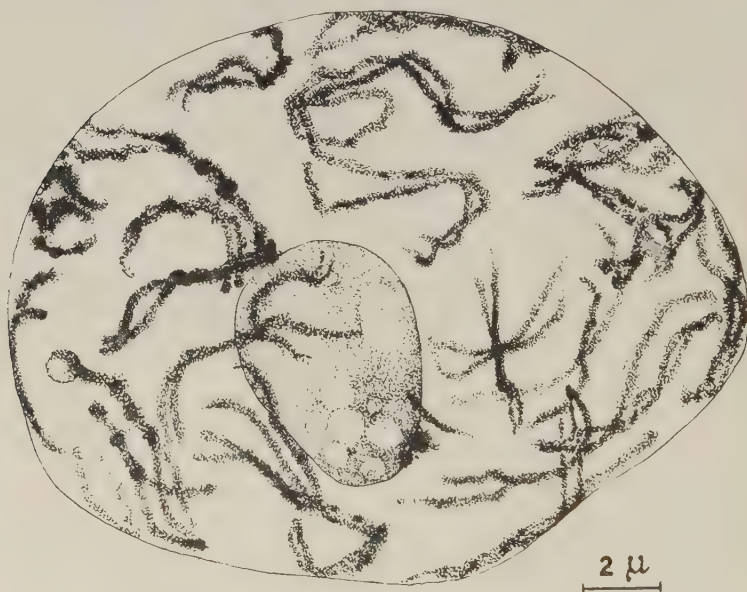


Fig. 19. — Prophase endomitotique dans la région prétumorale après action d'un extrait lipidique d'épithélioma mammaire pendant 48 h. (Dessin J. VAZART).

b) LES CHROMOCENTRES

Nous avons remarqué, uniquement sous l'effet des lipides actifs, une évolution des chromocentres, qui précède l'entrée en mitose de certains noyaux.

Cette évolution est caractérisée par une disparition des chromocentres collectifs qui se fragmentent en de très nombreux éléments ponctiformes (Pl. X, fig. 6), puis apparaissent de très courts bâtonnets clivés ou

associés par paires (Pl. X, fig. 7 et 8) faiblement colorables par le Feulgen ou l'hématoxyline ferrique. Les chromocentres deviennent ensuite à nouveau visibles (Pl. X, fig. 9). Ce processus, observé pour la première fois vers la 8^e heure, paraît se renouveler fréquemment pendant les 4-5 premiers jours affectant de nombreux noyaux de la région pré-tumorale qui ne sont pas encore entrés en division.

Nous pensons qu'il y a lieu de rapprocher de cette duplication apparente des éléments chromonématiques les prophases endomitotiques dont nous avons constaté la présence, sous l'effet des lipides actifs, tant dans la région cicatricielle que dans la zone pré-tumorale (Fig. 19 et Pl. X, fig. 10).

Certes, des prophases endomitotiques apparaissent isolément, près de la blessure, au cours de la cicatrisation normale, jusque vers le 7^e jour. Sans l'adjonction d'un lipide actif elles restent rares. Leur existence confirme — ainsi qu'il est établi pour les parenchymes adultes de la plupart des végétaux supérieurs — que la moelle de *Pelargonium* renferme des noyaux devenus polyplôides par des endomitoses somatiques. Les lipides accentuent seulement un phénomène qui se déroule normalement dans les cellules adultes.

c) LA MITOSE

Il convient de souligner que les mitoses sont précédées par les bourgeonnements nucléolaires et l'augmentation du nombre des nucléoles.

Dans la région cicatricielle, qu'il y ait ou non apport de lipides actifs, elles apparaissent vers la 19^e heure, diminuent en nombre vers le 10^e jour et cessent sensiblement vers le 12^e jour (Tableau IV, gr. 4).

Pendant la cicatrisation, sans apport de lipides, quelques mitoses apparaissent au-delà de dix assises, vers la 24^e heure, et cessent vers la 76^e heure (T. IV, gr. 4).

Sous l'effet des lipides actifs, par contre, les mitoses, notées, dès la 24^e heure également, dans la région pré-tumorale, se produisent sans discontinuer et deviennent particulièrement nombreuses vers le 7^e jour (T. IV, gr. 4).

On relève, surtout dans la région pré-tumorale et sous l'effet des lipides actifs, une augmentation du nombre des nucléoles chez certains noyaux (Pl. X, fig. 11) et diverses anomalies de la mitose : anaphases et télophases à chromosomes retardataires, noyaux post-télophasiques accolés. Nous reviendrons sur ces anomalies en étudiant les troubles de la mitose dans les stades avancés de la réaction hyperplasique.

*
* *

L'étude caryologique des premiers stades nous conduit aux constatations suivantes :

— Le premier phénomène, affectant les noyaux du parenchyme médullaire blessé, est constitué par le bourgeonnement nucléolaire qui coïncide avec la venue des noyaux en position centrale dans les cellules voisines de la blessure.

— L'augmentation du nombre des nucléoles et de leur volume précède les premières mitoses, aussi bien dans la région cicatricielle que dans la région pré tumorale. Elle se maintient jusqu'à ce que les mitoses aient commencé à se dérouler à un rythme rapide.

Dès le 5^e jour, dans le cas de la cicatrisation, les phénomènes intéressant le nucléole sont terminés. A ce moment, les mitoses sont nombreuses ; elles ne cessent que vers le 12^e jour.

Sous l'effet des lipides actifs, les modifications nucléolaires se poursuivent plus longtemps, et ne s'achèvent que vers le 9^e jour, alors que des mitoses se produisent en grand nombre sur toute l'étendue de la région pré tumorale dès les 7^e-8^e jours ; celles-ci se poursuivent bien au-delà de la période de 12-15 jours constituant la durée normale de cicatrisation.

— On relève entre le 7^e et le 10^e jours, dans la région pré tumorale, une véritable intrication de noyaux déjà divisés dans lesquels une régulation nucléolaire s'est produite, de noyaux télophasiques accolés et de noyaux à nucléoles nombreux, devenus volumineux, qui ne sont pas encore entrés en division.

— Si quelques prophases endomitotiques apparaissent à l'occasion des cicatrisations normales, elles sont beaucoup plus visibles dans la région pré tumorale sous l'effet des lipides actifs, où elles ont été précédées d'une duplication d'éléments chromonématiques, intervenant dès la 8^e heure après l'introduction des lipides dans la blessure.

2°) *Etude caryologique des stades avancés*

A partir du 15^e jour, les réactions tumorales se séparent complètement des phénomènes cicatriciels. Dans les tissus cicatriciels, en effet, les mitoses ont cessé. Elles se poursuivent au contraire dans les tumeurs médullaires ; des aires non encore recloisonnées subissent des phénomènes analogues à ceux qui se sont déroulés à l'occasion des premiers stades, et qui précèdent le déclenchement de l'hyperplasie.

a) AIRES NON RECLOISONNÉES

Certaines modifications affectent les noyaux de cellules non encore recloisonnées, qui vont subir leur première division.

α. Phénomènes précédant les mitoses

Dans les cellules non divisées, voisines de cellules recloisonnées, et même parfois jusqu'à 10-15 assises de ces cellules, on remarque :

— Un accroissement considérable du volume nucléaire, avec augmentation du nombre des nucléoles et des chromocentres, en l'absence certaine de mitoses (Pl. X, fig. 13 et 14).

— Une évolution des chromocentres, identique à celle que nous avons déjà décrite pour les premiers stades.

A l'occasion de la première division de ces noyaux on remarque des prophases endomitotiques.

L'augmentation de volume de certains noyaux s'explique aussi par des accollements intervenus dans les cellules binucléées, assez fréquentes dans la moelle de *Pelargonium*.

β. Les mitoses

On relève dans les régions périphériques des anomalies plus nombreuses que dans les tumeurs elles-mêmes.

En dehors des endomitoses, la prophase se signale par l'accumulation de plastes sur l'étoile cytoplasmique qui s'est formée autour du noyau. Les chromosomes sont généralement grêles et flexueux dans les prophases diploïdes, plus courts et épais dans les prophases polyploïdes. Parfois, le stock chromosomique se trouve nettement réparti entre deux régions du noyau : ce sont les prophases de noyaux accolés.

La métaphase est le plus souvent normale. Nous avons remarqué des métaphases polyploïdes à chromosomes contractés et quelques rares images où les chromosomes étaient agglutinés. Le fuseau achromatique est normalement présent dès la métaphase.

L'anaphase montre dans certains cas une répartition inégale du matériel chromosomique. Plus souvent, on observe la persistance de liaisons entre les chromosomes des deux groupes au début de l'anaphase, et de chromosomes retardataires en fin d'anaphase ou à la télophase (Pl. X, fig. 15).

De nombreuses télophases s'achèvent par des noyaux de restitution soudés, avec souvent un parallélisme net dans la taille et la disposition des nucléoles (Pl. X, fig. 20).

On remarque en même temps soit l'absence de fonctionnement du

phragmoplaste, soit des perturbations de ce fonctionnement dont nous citerons quelques exemples :

— La membrane néoformée entoure les noyaux déjà soudés autour de leur ligne de jonction (Pl. XI, fig. 1).

— La membrane part d'une échancrure des noyaux soudés (Pl. XI, fig. 2).

— La membrane se forme en dehors des noyaux soudés, isolant un espace anucléé d'une cellule renfermant un noyau polyploïde.

— Lorsque des mitoses se déroulent successivement dans une même cellule, suivies d'accrolements nucléaires, certaines d'entre elles peuvent apparaître à la prophase comme encastrées dans une membrane provenant d'une précédente division (1) (Pl. XI, fig. 3 et 4).

Ces diverses anomalies entraînent la formation de noyaux hautement polyploïdes (Pl. X, fig. 27).

b) AIRES RECLOISONNÉES

Nous avons vu dans le tissu hyperplasié des anomalies moins nombreuses que lors des premiers recloisonnements et peu de noyaux polyploïdes.

Cette diminution du nombre des noyaux polyploïdes peut être attribuée soit à une régulation intervenant au cours des mitoses successives, soit au fait que les noyaux polyploïdes se diviseraient moins souvent que les noyaux diploïdes et apparaîtraient finalement comme noyés dans la masse de ces derniers.

Les noyaux volumineux sont donc moins nombreux dans les foyers hyperplasiques (Pl. X, fig. 12 et 22) ; l'évolution endomitotique des chromocentres n'y est pas nette et se confond aisément avec des phénomènes interphasiques. Les anomalies de la mitose qui y sont observées sont nettement plus rares que dans les régions périphériques (Pl. X, fig. 16).

Dans les tumeurs jeunes, la plupart des noyaux des cellules constituant le nodule tumoral n'ont qu'un ou deux nucléoles. La proportion de noyaux à plus de deux nucléoles est faible, alors qu'elle est assez élevée dans la région périphérique.

Dans les tumeurs médullaires âgées de douze à quinze mois, où les mitoses ont cessé depuis longtemps, des noyaux volumineux sont devenus fusiformes, et l'on y compte d'assez nombreux nucléoles (jusqu'à 17 pour un seul noyau).

Le nucléole est généralement volumineux par rapport à l'ensemble du noyau ; il mesure souvent 4 à 6 μ de diamètre pour des noyaux dont la

(1) Des images semblables ont été décrites par GAVAUDAN après action de substances mitoclasiques (1939).

plus grande dimension atteint 17 à 23 μ . Il est fréquemment creusé de cavernes.

Enfin, dans les noyaux accolés, on observe un parallélisme net dans la disposition et la taille des nucléoles (Pl. X, fig. 17 à 19).

3°) *Mitochondries et plastes*

Les éléments figurés — mitochondries et plastes — que l'on observe dans le cytoplasme des cellules médullaires subissent des variations saisonnières. La plus importante est celle qui affecte les amyloplastes qui disparaissent progressivement pendant la croissance des tiges au printemps et en été, pour se reformer dès l'arrêt de la croissance et constituer d'importantes réserves en automne.

Lorsque des tumeurs médullaires se développent sur des tiges riches en amyloplastes, l'amidon disparaît presque complètement du foyer tumoral.

Dans les cellules non recloisonnées, voisines de la tumeur, les amyloplastes sont peu nombreux. Les réserves amyloacées demeurent intactes dans les cellules situées à plus grande distance.

Ces phénomènes d'amyolyse, habituels dans les tissus en voie de différenciation, se retrouvent constamment dans les tumeurs médullaires.

On observe de nombreux chloroplastes dans les cellules des assises les plus externes de la moelle.

Dans le parenchyme médullaire non recloisonné, les chloroplastes fortement mais irrégulièrement colorés en violet foncé par l'hématoxyline ferrique, sont accolés aux parois ; leur diamètre moyen varie de 3 à 3,5 μ . Les chondriosomes ont le plus souvent la forme de courts bâtonnets non vésiculisés.

Dans les cellules médullaires recloisonnées les chloroplastes sont plus petits et sont souvent accumulés sur le noyau ; leur diamètre moyen varie de 2 à 2,5 μ . Ils sont sidérophiles et fréquemment en division. Les chondriosomes ne paraissent pas modifiés.

Après coloration au Noir Soudan, les chloroplastes des cellules péri-médullaires, dans les préparations témoins, sont uniformément verdâtres, avec quelques rares granulations soudanophiles.

Dans la région hyperplasiée, les chloroplastes apparaissent au contraire entourés de fines gouttelettes lipidiques et renferment des inclusions soudanophiles. Il en est de même dans les cellules non recloisonnées qui ont été imprégnées par les lipides.

En résumé :

L'étude cytologique des réactions hyperplasiques déterminées par les lipides actifs sur des tiges blessées de *Pelargonium zonale* permet de constater essentiellement que les mitoses sont précédées par :

- des bourgeonnements nucléolaires,
- la disparition des chromocentres collectifs suivie d'une augmentation du nombre des éléments chromocentriques,
- une augmentation parfois considérable du volume de certains noyaux.

Les anomalies de la mitose sont banales pour un tissu adulte amené à subir une dédifférenciation partielle, mais elles sont observées en plus grand nombre que dans les régions affectées uniquement par des processus cicatriciels.

Les accolements nucléaires nombreux, qui se produisent dans le parenchyme médullaire hyperplasié, traduisent les troubles de la cytodierèse. Ces phénomènes paraissent devoir être rattachés plus à l'âge des tissus qu'aux effets propres des lipides actifs.

Il apparaît donc qu'en dehors des troubles qui précèdent la mitose (augmentation du volume et du nombre des nucléoles, endomitoses), l'ensemble des phénomènes signalés ne doit pas être rattaché aux effets des lipides actifs, mais à l'état de différenciation des cellules amenées à se recloisonner.

II. — *RICINUS SANGUINEUS*

Après avoir rappelé la structure normale de *Ricinus sanguineus*, nous décrirons brièvement l'anatomie des réactions obtenues, la répartition des lipides, les phénomènes caryologiques.

A. — Structure normale

L'anatomie et la cytologie du Ricin ont fait l'objet d'études très complètes. Pour l'anatomie, il convient de citer en particulier la thèse de GAUCHER (1902) et pour la caryologie l'étude du noyau de *Ricinus communis* par C. DELAY (1947). La répartition des lipides a surtout été étudiée dans la graine par LECLERC DU SABLON (1893), Pierre DANGEARD (1923), HOUGET (1942 *a*, *b* et *c*) et DESVEAUX (1952).

1°) *Anatomie et cytologie*

Nous indiquerons seulement quelques caractéristiques de la tige de *Ricinus sanguineus* :

— cavité médullaire centrale segmentée par des zones nodales imperforées, sauf dans l'hypocotyle où la moelle est pleine ;

— faisceaux collenchymateux discontinus, isolés les uns des autres par des groupes de cellules à parois minces, arrondies, qui mettent en communication le parenchyme cortical avec l'épiderme, généralement au niveau d'un stomate ;

— présence dans les tiges âgées, et à leur base uniquement, de lenticelles d'origine sous-stomatique.

Les noyaux sont de type aréiculé à euchromocentres avec un nucléole de faible diamètre (inférieur à $2,5 \mu$), parfois deux dans les tissus voisins de l'apex ; $2n = 20$. Parmi les chromocentres, dont le nombre varie de 12 à 20, il en est 5 à 10 de volumineux, les autres étant ponctiformes.

2°) *Répartition des lipides*

Elle varie un peu selon l'âge de la plante et les individus.

À la face inférieure des feuilles, des gouttelettes lipidiques sont visibles dans les cellules stomatiques et dans les assises génératrices des nervures.

Dans le méristème apical et la zone procambiale voisine, les noyaux sont entourés d'éléments de type mitochondrial à contenu soudanophile.

Dans la moelle périphérique et les assises internes de l'écorce se différencient des cellules à contenu lipidique. Souvent en files dans les entrenœuds jeunes, elles ont été interprétées comme sécrétrices de lipides (R. BLOCH). Elles diminuent en nombre dans les régions bien différenciées de la tige et sont absentes des entrenœuds les plus âgés.

Le lavage des préparations à l'alcool absolu fait disparaître tous les éléments soudanophiles : ceux-ci, ou leur contenu, sont donc solubles dans l'alcool comme l'huile extraite des graines.

Il existe, lors de la germination, des courants lipidiques qui conduisent l'huile de l'albumen vers les cotylédons et des cotylédons vers la planicule : l'huile chemine soit par les vaisseaux, soit par les assises parenchymateuses qui entourent le système conducteur. Le passage s'effectue par les espaces intercellulaires et également de cellule à cellule.

Chez les plantes adultes on observe, surtout au niveau du collet, la présence de films soudanophiles dans les espaces intercellulaires des assises internes de l'écorce.

3°) *Cicatrisation*

Les cals médullaires provoqués par des blessures simples, des blessures recouvertes d'emplâtres lanolinés ou des injections d'eau, ont une structure hyperplasique régulière : les cellules sont orientées en files radiales vers la cavité centrale, qui peut se trouver exceptionnellement obstruée par le cal cicatriciel chez les plantes cultivées en pleine terre et vigoureuses.

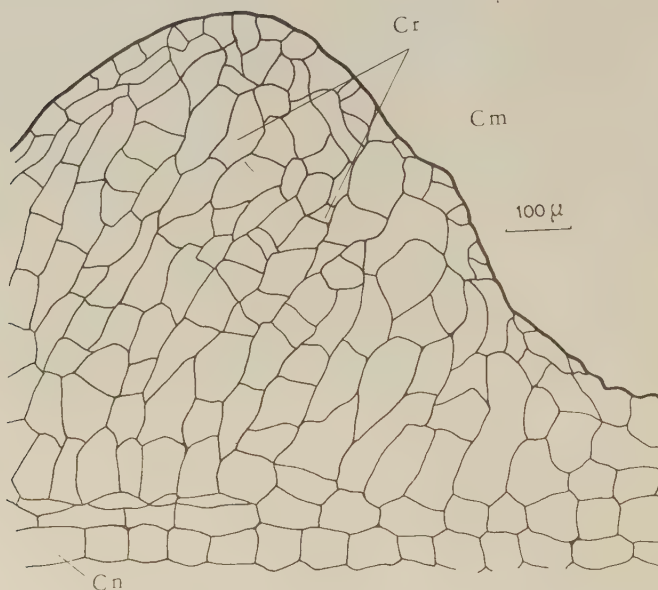


Fig. 20. — Réaction cicatricielle de la moelle de *Ricinus sanguineus* après blessure et application de lanoline pure anhydre. Les cellules se sont hypertrophiées et recloisonnées en files radiales assez régulières. 15^e jour. Coupe longitudinale. Cm, Cavité médullaire ; Cn, Cellules médullaires normales ; Cr, Cellules recloisonnées.

LEVINE a déjà signalé (1934 et 1935) que des excroissances médullaires capables d'obstruer la cavité centrale se produisent sous l'effet de bactéries à faible pouvoir tumoral, associées à des fractions extraites d'*Agrobacterium tumefaciens*. Cet auteur considère ces réactions comme non spécifiques, car il a été démontré qu'un grand nombre de substances — même l'eau — peuvent provoquer de telles néoformations callogènes chez *Ricinus communis*.

Après de très nombreuses expériences faites sur *Ricinus sanguineus* et *Ricinus zanzibarensis* (qui réagit très faiblement), nous pouvons préciser que ces espèces, cultivées en serre, ne présentent sous l'effet d'excitations banales que des hyperplasies très limitées du type de celle que nous avons représentée à la Fig. 20.

Les autres parenchymes, notamment l'écorce, réagissent par des recloisonnements localisés autour de la blessure, comme tous les tissus lésés.

Le processus cicatriciel entraîne des bourgeonnements nucléolaires, l'augmentation temporaire du nombre des nucléoles, et des mitoses diploïdes qui cessent après une quinzaine de jours.

B. — Etude anatomique des néoformations médullaires

Nous avons déjà signalé que des huiles et des graisses actives exercent sur le parenchyme médullaire des tiges blessées une action hyperplasique

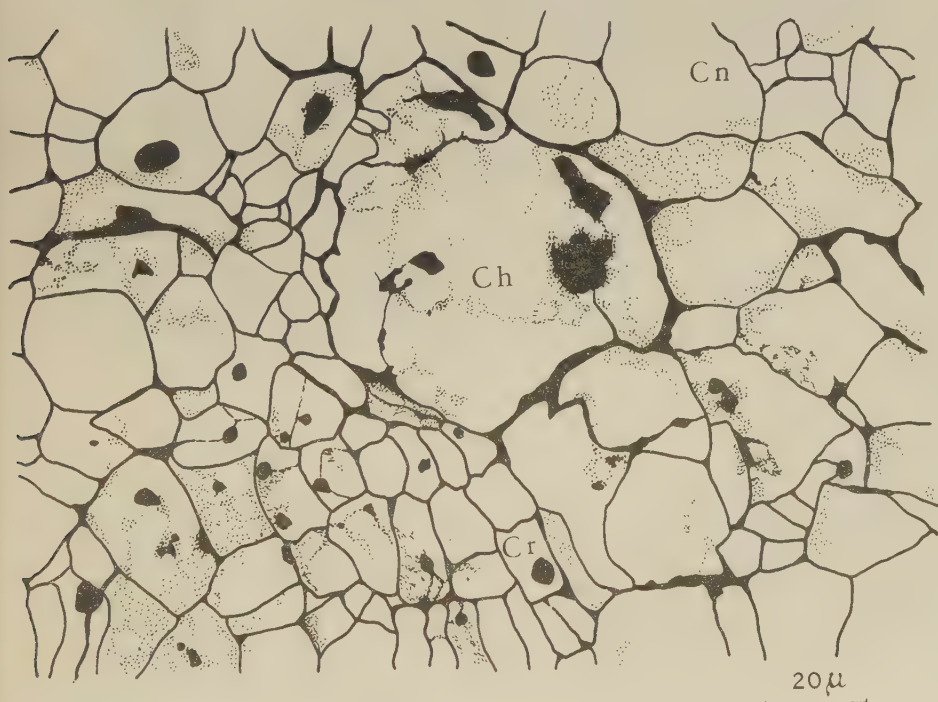


Fig. 21. — Hyperplasie de la moelle de *Ricinus sanguineus* après application externe de graisse d'épithélioma mammaire sur des blessures. On note comme chez *Pelargonium* (cf. Fig. 11 et 13) la présence de cellules hypertrophiées (Ch) entourées de petites cellules hyperplasiées à gros noyaux (Cr) ; certaines cellules (Cn) n'ont pas été atteintes et sont demeurées normales. 8^e jour. Coupe longitudinale.

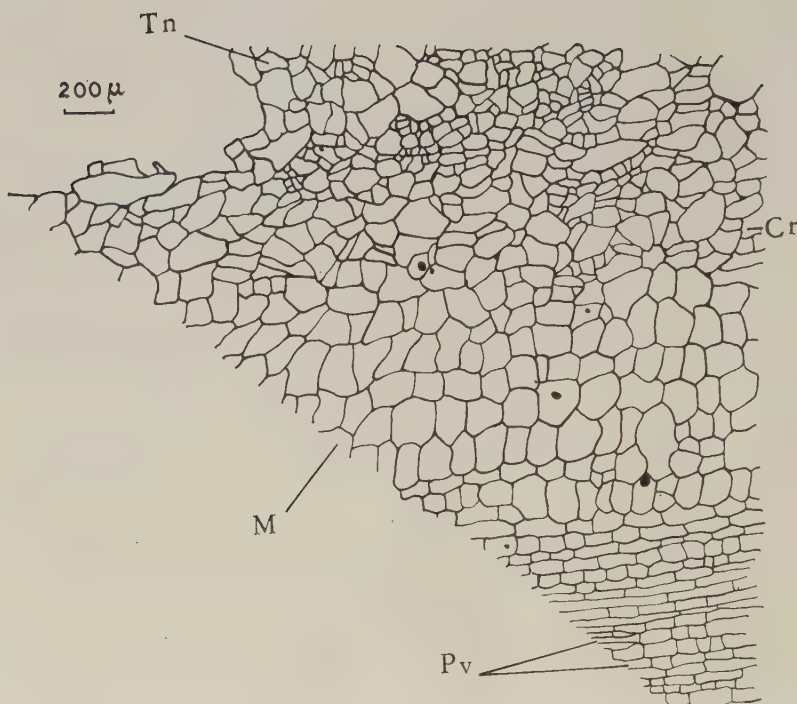


Fig. 22. — Action d'un extrait lipidique d'épithélioma mammaire sur la moelle de *Ricinus sanguineus* ; 13^e jour. On voit nettement sur ce dessin le départ d'un pédoncule tumoral (Tn) qui s'est constitué à partir des cellules médullaires recloisonnées (Cr) où des anomalies nucléaires sont constatées. Le reste de la moelle ne réagit pas (M), de même que le parenchyme vasculaire (Pv). Coupe longitudinale.

intense et que les néoformations sont susceptibles d'obstruer la cavité centrale sur 3-4 cm. Ce parenchyme est plus particulièrement sensible dans les entrenœuds jeunes, et les tumeurs augmentent de volume, au fur et à mesure, de l'hypocotyle à l'apex (Fig. 3). Nous avons suivi cette réaction chez des Ricins de 35 à 50 cm de haut, ayant subi les effets sur leurs entrenœuds blessés d'un extrait lipidique total d'épithélioma mammaire dilué dans son poids de lanoline anhydre.

Jusque vers le 5^e jour, la réaction ne se différencie pas du processus cicatriciel normal, caractérisé par une hyperplasie régulière des cellules autour de la plaie.

Vers les 6^e-7^e jours s'ébauche une hyperplasie intense des assises médullaires voisines de la cavité centrale et proches de la blessure. Le parenchyme médullaire situé autour de celle-ci se recloisonne activement.

Vers les 8^e-9^e jours, une zonation nette s'établit dans le parenchyme médullaire : face à la blessure, partiellement comblée, un nodule constitué par des cellules néoformées occupe une partie de la cavité centrale. Il se trouve enchâssé dans une boursouffure parenchymateuse composée de cellules médullaires recloisonnées en files radiales (Pl. XII, fig. 1).

La disposition des cellules dans ce foyer réactionnel est anarchique. Leurs dimensions sont variables ; on observe fréquemment de petites cellules entourant des cellules hypertrophiées (Fig. 21) comme chez *Pelargonium zonale*.



Fig. 23. — Même coupe que la Fig. 22, montrant une zone néoformée plus importante. On note la présence de cellules hypertrophiées (Ch) entourées de cellules recloisonnées (Cr). La région néoformée située près de la blessure (Bl) a un aspect plus régulier (cellules disposées en files radiales) que celle qui en est éloignée.

Dès le 13^e jour, le canal médullaire des entrenœuds situés à mi-hauteur de la plante est en partie comblé par un tissu friable et translucide provenant de l'accroissement du nodule hyperplasique. Les cellules, en général petites, ont une disposition anarchique ; la zonation précédemment observée dans le parenchyme médullaire se précise (Fig. 22 à 24).

Au 17^e jour, la cavité centrale se trouve entièrement obstruée par la tumeur médullaire.

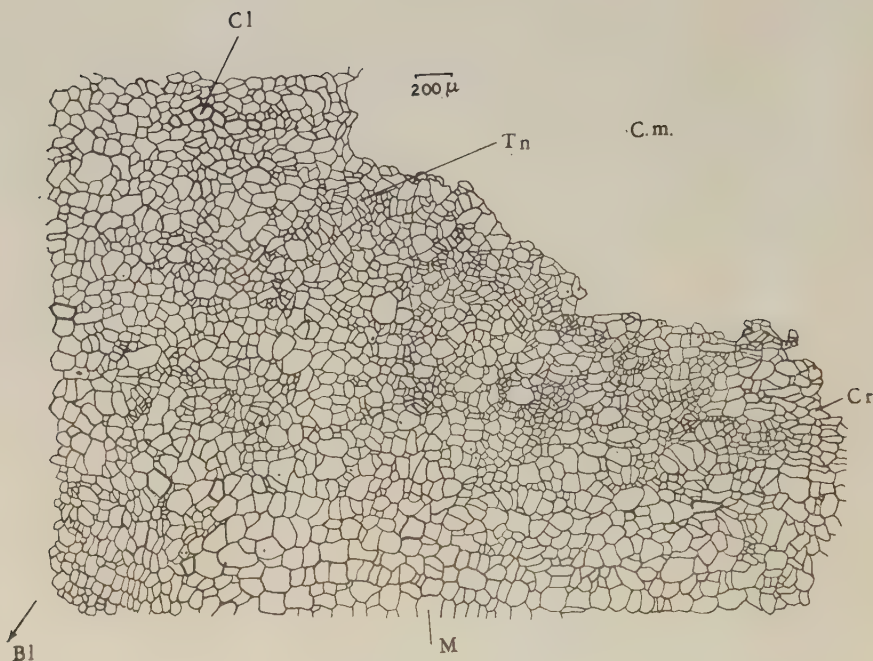


Fig. 24. — Cette coupe passe davantage dans l'axe de la tumeur qui envahit presque complètement la cavité médullaire (Cm). La moelle normale (M) est recouverte d'un tissu hyperplasié formé par recloisonnements successifs (Cr) et à partir duquel s'édifie le tissu néoformé (Tn). On distingue isolément des cellules lignifiées (Cl).

La zone de recloisonnement périphérique se stabilise vers les 25°-30° jours. Les néoformations cessent de se développer vers les 40°-50° jours : à ce moment elles sont constituées par une masse parenchymateuse friable composée de petites cellules à disposition anarchique (Pl. I, fig. 11). Il ne s'y opère pas de différenciation et elles ne se modifient plus jusqu'à ce qu'interviennent des processus de nécrose (Pl. I, fig. 12).

C. — Répartition des lipides

Nous décrirons très succinctement la répartition des lipides qui s'opère comme chez *Pelargonium zonale*.

Les lipides se répartissent d'abord dans les espaces intercellulaires de la moelle, puis pénètrent dans les cellules où on les observe sous des formes diverses :

— dans le cytoplasme : gouttelettes et courts bâtonnets soudanophiles ;

— dans les noyaux : gouttelettes dans l'enchylème, chromocentres devenus colorables par le Noir Soudan, liséré soudanophile, souvent globuleux autour du nucléole.

Comme chez *Pelargonium zonale*, les lipides ne pénètrent pas dans le tissu libérien. Les faisceaux collenchymateux et le sclérenchyme péri-cyclique constituent des barrières qui s'opposent dans une certaine mesure à la diffusion des lipides.

Dans le parenchyme médullaire hyperplasié, les lipides sont moins abondants, et dans la néoformation achevée, il n'en reste que quelques traces localisées principalement dans les espaces intercellulaires.

Dans le parenchyme médullaire non recloisonné et dans les tissus voisins, ils subsistent jusqu'à la mort du végétal, bloquant pendant des mois les espaces intercellulaires et certains vaisseaux.

Pour ces expériences faites par piqûres et applications externes d'emplâtres lanolinés, nous n'avons étudié que l'action des graisses qui s'étaient révélées les plus actives chez *Pelargonium zonale* : graisse d'épithélioma mammaire et graisse abdominale humaine.

D. — Etude caryologique

Chez le Ricin, comme chez le *Pelargonium*, les principales anomalies caryologiques sont constatées, non dans la partie centrale de la tumeur, mais dans la région de la moelle où se produisent les premiers recloisonnements et qui constitue seulement autour du nodule central une sorte de boursouffure. Il convient cependant de préciser que, si nous avons remarqué dans les zones périphériques de recloisonnement de nombreuses mitoses polyploïdes, nous n'avons vu qu'exceptionnellement des prophases endomitotiques (Fig. 25).

Dès le 3^e jour se produisent des mitoses aux différents stades, sur deux à quatre assises, de part et d'autre de la blessure. On remarque des noyaux à nucléoles bourgeonnants, à deux nucléoles, à un nucléole présentant des cavernes, des noyaux soudés à deux nucléoles, des noyaux à euchromocentres nets, d'autres à euchromocentres nombreux et peu colorables par le Feulgen.

Entre le 5^e et le 8^e jours on note, dans la zone médullaire de recloisonnement, l'apparition de noyaux à nucléoles volumineux atteignant 9 μ de diamètre (Fig. 25). Dans la région hyperplasiée, les noyaux sont d'apparence normale.

Au 13^e jour on relève dans la zone de recloisonnement périphérique :

- des noyaux de taille normale à un nucléole volumineux ou à plusieurs nucléoles ;
- des noyaux volumineux à 2, 3 ou 4 nucléoles de diamètre variable



Fig. 25. — Début de prophase endomitotique dans une cellule recloisonnée de la moelle de *Ricinus sanguineus* après application d'un extrait lipidique d'épithélioma mammaire, 13^e jour. Le nucléole, qui atteint 9 μ de diamètre, présente une importante cavité centrale ; quelques chromosomes (C) se détachent d'un enchylème diffus ; ils sont disposés par paires et certains d'entre eux sont déjà clivés (extrémités bifides). Ce noyau qui a déjà subi une ou plusieurs divisions est rattaché par une membrane (m) à la périphérie de la cellule. Fixation Helly. Coloration hématoxyline ferrique.

(Pl. XII, fig. 3 et 4), ou profondément lobés, à 4-5 nucléoles, avec de nombreux euchromocentres (Pl. XII, fig. 8) ;

— des mitoses di ou polyplôides avec, fréquemment, des chromosomes retardataires à la fin de l'anaphase, entraînant, par la constitution de ponts télophasiques, la formation de noyaux de restitution accolés (Pl. XII, fig. 5, 6 et 7).

Nous retrouvons ici, dans l'ensemble, les mêmes phénomènes que ceux précédemment décrits pour la moelle de *Pelargonium*, en particulier les accollements nucléaires, avec les mêmes troubles dans le fonctionnement du phragmoplaste (Fig. 25).

III. — *NICOTIANA TABACUM* ET PLANTES DIVERSES

Dans la moelle adulte de *Nicotiana tabacum* (variété White Burley), constituée par un parenchyme à grandes cellules, les noyaux, de type réticulé, avec quelques chromocentres, ont un seul nucléole ; $2n = 48$. Les dimensions moyennes de ces noyaux dans la moelle sont de l'ordre de $18 \times 18 \mu$. On ne remarque que rarement des inclusions soudanophiles dans le cytoplasme. La cicatrisation s'opère sensiblement comme chez *Pelargonium zonale*.

Dès le 4^e jour après application d'un extrait lipidique d'épithélioma mammaire sur des blessures de tiges, on note le noircissement d'un fuseau épidermique orienté axialement autour de chaque orifice.

Au 9^e jour, certains entrenœuds ont éclaté : les cellules collenchymateuses de l'écorce sont hypertrophiées dans le sens axial et leurs membranes sont surchargées de matières brunes (colorées en jaune par le Feulgen et le rouge de ruthénium). On trouve des dépôts semblables dans la moelle, qui ne peuvent être colorés ni par les réactifs de la lignine, ni par le Noir Soudan. Ils paraissent correspondre à des réactions de dégénérescence de la cellulose. Il ne s'agit ni de lipides, ni d'acides gras : des bains successifs et prolongés d'alcool ou de xylène n'en opèrent pas la dissolution.

Tandis que le parenchyme cortical se cicatrise, la moelle présente de nombreux recloisonnements irréguliers analogues à ceux du *Pelargonium* et du Ricin. Dans la moelle recloisonnée comme dans les cellules voisines non encore divisées, apparaissent des noyaux à plusieurs nucléoles dont le volume est au moins le double de celui des noyaux normaux.

Au 23^e jour, des tissus externes écartés au niveau des blessures, saillent une masse médullaire translucide. La zone de recloisonnement est devenue plus importante, sans cependant que les cellules aient pris une disposition anarchique. Les mitoses sont nombreuses, mais régulières, les noyaux volumineux.

Vers le 30^e jour, les divisions cessent peu à peu et la zone de recloisonnement ne s'accroît plus que faiblement.

La concentration des produits actifs des lipides, obtenue par l'utilisation de leur substance insaponifiable, nous a révélé dans le cas du Tabac une réaction du parenchyme médullaire identique à celle obtenue *in vitro* par SKOOG et MILLER (1957) en cultivant ce parenchyme dans un milieu contenant de la kinétine et de l'acide indole-acétique : les grandes cellules médullaires se recloisonnent anarchiquement, formant un véritable lacs de cellules hyperplasiées (Fig. 26).

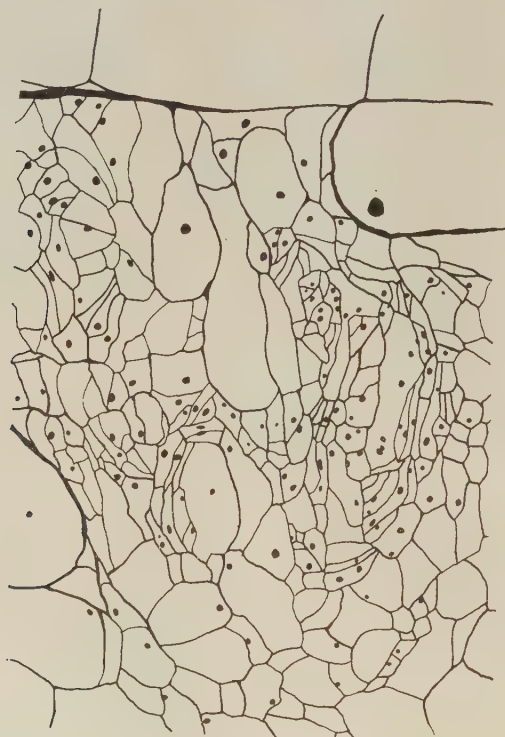


Fig. 26. — Recloisonnement intense des grandes cellules médullaires chez *Nicotiana tabacum* sous l'effet de la fraction insaponifiable d'une graisse mammaire. 28^e jour.

Les lipides sont répartis essentiellement dans les espaces intercellulaires et, en moins grandes quantités, dans le cytoplasme et les noyaux.

Nous n'avons pas fait d'étude approfondie de ces réactions, les expériences conduites sur *Nicotiana tabacum* ayant eu pour seul but de véri-

fier si les lipides actifs provoquaient sur cette plante des néoformations analogues à celles du *Pelargonium*.

PLANTES DIVERSES

L'application d'une graisse humaine sur des tiges blessées de Soleil et de Topinambour (Composées) détermine des réactions médullaires hyperplasiques très localisées formant des cals cicatriciels où se différencient des formations cribro-vasculaires.

Diverses plantes, telles la Tomate (Solanacées), le Melon, le Concombre, la Courge (Cucurbitacées), le Chrysanthème, l'Aster, le Souci, le Zinnia (Composées), la Sauge (Labiacées) et le Glaïeul (Iridacées), n'ont réagi au point de vue médullaire que par des cicatrisations banales, malgré la pénétration des lipides dans les tissus.

Il convient cependant d'apporter à ces résultats négatifs une réserve importante : l'expérimentation a été conduite seulement avec un extrait lipidique d'épithélioma mammaire dont nous désirions tester l'activité sur des plantes appartenant à des familles diverses, et il est possible que d'autres huiles ou graisses eussent pu se révéler actives sur ces végétaux.

CHAPITRE 3

FACTEURS CONDITIONNANT L'APPARITION ET LE DEVELOPPEMENT DES TUMEURS MEDULLAIRES CHEZ *PELARGONIUM ZONALE* (1)

Au cours de nos recherches, nous avons constaté que divers facteurs interviennent dans la formation et le développement des tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale*.

Nous allons les examiner successivement.

I. — NECESSITE D'UNE BLESSURE

La blessure de la tige est indispensable ; nous devons envisager son rôle dans la formation et le développement de la tumeur.

A. — Rôle de la blessure dans la formation de la tumeur

De multiples expériences nous permettent de considérer qu'une blessure lésant directement la moelle est indispensable à la formation ultérieure de la tumeur médullaire.

1°) *Absence de blessures directes*

L'introduction de lipides actifs sans blessure est inefficace : une goutte ou deux de lipides déposées sur les entrenœuds, en l'absence de blessure, n'entraîne aucun recloisonnement. Les lipides pénètrent faiblement dans l'écorce, à peine dans la moelle.

Afin d'obtenir une diffusion intramédullaire des lipides en l'absence de blessures directes, nous avons entouré les entrenœuds avec des cotons imbibés d'huiles ou de graisses actives. Quelques jours après, les tiges ont pris un aspect translucide, près de ces manchons. Ceux-ci sont retirés au bout

(1) Ne pouvant procéder à une étude complète des facteurs étiologiques à la fois chez le Ricin et le Pelargonium, nous avons préféré choisir ce dernier, dont le parenchyme médullaire réagit isolément sans participation des autres tissus.

de quatorze jours, laissant voir dans certains cas une ulcération globale de la tige par destruction des assises superficielles. La moelle, qui n'est le siège d'aucun processus cicatriciel, est entièrement envahie par les lipides. Elle ne présente aucune réaction.

Une meilleure imprégnation, sans effets toxiques, est obtenue par badiageonnages quotidiens des tiges avec un pinceau trempé dans l'huile.

L'examen des préparations montre :

- que l'huile pénètre abondamment dans le parenchyme médullaire, alors que, seuls, des poils épidermiques ont été lésés ;
- que les lipides ne provoquent aucune réaction malgré leur présence dans les espaces intercellulaires, le cytoplasme et les noyaux eux-mêmes.

2°) Blessures superficielles

L'introduction des lipides actifs, à la suite de blessures, n'est pas toujours efficace. Les grattages superficiels de l'épiderme et de l'écorce, ou des blessures ne lésant pas la moelle, ne sont suivis que d'une cicatrisation (Fig. 27 - *a* et *b*).

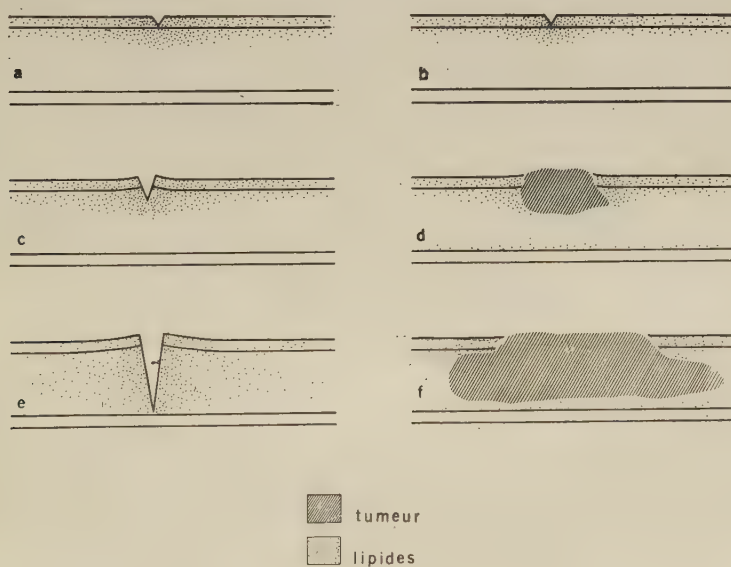


Fig. 27. — Rôle de la profondeur de la piqûre initiale dans la formation de la tumeur médullaire.

En *a*, la moelle n'est pas atteinte par la blessure ; en *b*, trente jours plus tard, aucune réaction médullaire n'est observée ; en *c*, la blessure atteint à peine le tiers du diamètre médullaire, la tumeur qui se développe en *d* est nettement proportionnée à cette blessure ; en *e*, la blessure atteint l'ensemble du diamètre médullaire, une importante tumeur médullaire correspond en *f* à cette blessure.

3°) Blessures lésant directement la moelle

Pour permettre la formation des tumeurs, la blessure doit léser le parenchyme médullaire assez profondément pour entraîner un processus cicatriciel de moyenne intensité. Ce résultat est obtenu en pratiquant deux à trois piqûres dans un même plan horizontal. Le diamètre des blessures doit être suffisant pour assurer une bonne diffusion des lipides dans les cellules composant la région centrale de la moelle (Fig. 27 - *c, d, e, f*).

Par contre des blessures profondes, étendues, ne provoquent pas de tumeurs plus importantes que celles obtenues par de simples piqûres : la croissance de la tumeur est limitée à la longueur du trait de blessure avec des recloisonnements concentriques autour d'îlots de cellules non divisées.

Des lésions très importantes, atteignant l'entre-nœud entier, avec ablation d'un quadrant de tige, ne provoquent pas de tumeur.

B. — Rôle de la blessure dans le développement de la tumeur

Le développement de la tumeur est, lui aussi, conditionné par la profondeur de la blessure initiale dans la moelle.

Si la blessure n'intéresse que le premier tiers du diamètre de la moelle, la tumeur n'atteint que de faibles dimensions (Fig. 27 - *c* et *d*). Si, au contraire, elle traverse entièrement la moelle, la tumeur peut prendre un développement considérable (Fig. 27 - *e* et *f*).

Les assises cellulaires qui tapissent le fond de la blessure subissent quelques recloisonnements cicatriciels, mais ne participent pas à la constitution de la tumeur médullaire.

Une nappe de cellules normales isole la tumeur du parenchyme non recloisonné. Ces cellules renferment souvent des lipides, mais ne subissent pas de recloisonnements, bien que de nombreux noyaux aient fortement augmenté de volume.

II. — APPPOSITION D'UN LIPIDE ACTIF SUR LA BLESSURE

Une goutte d'huile active suffit pour provoquer la formation et permettre le développement d'une tumeur médullaire atteignant les dimensions de l'entre-nœud qui la porte.

Les résultats sont plus constants cependant, si l'on prend le soin de renouveler l'apport d'huile active à deux ou trois reprises pendant les cinq premiers jours.

Un contact de 24 h avec une pâte lanolinée renfermant un lipide actif est également suffisant, mais la tumeur n'atteint pas, dans ce cas, un aussi grand développement que si l'on renouvelle le produit actif pendant les quinze premiers jours, la diffusion de cette pâte s'opérant plus lentement que celle d'une huile. Au-delà de quinze jours, les renouvellements sont inutiles et peuvent même nuire à la tumeur en provoquant la nécrose de sa partie centrale.

Le développement de la tumeur dépend de la proportion de lipides actifs qui figure dans la pâte lanolinée ou l'huile inactive utilisées comme diluants. Cette proportion a dû être recherchée par tâtonnements pour chaque échantillon. Nous avons fréquemment employé pour la graisse humaine des dilutions à poids égal dans la lanoline, l'huile de coton ou l'huile d'olive.

Les renouvellements d'emplâtres, les adjonctions répétées d'huiles n'ont d'intérêt que dans la mesure où ils augmentent les chances du meilleur envahissement lipidique d'un certain volume, et non d'une simple plage médullaire.

La pénétration intracellulaire et intranucléaire des lipides actifs joue également un rôle considérable dans la formation et le développement des tumeurs médullaires. Cette pénétration intracellulaire est certainement influencée par la présence d'acides gras libres dans les lipides utilisés.

Cette notion, établie par SCHMIDT, se trouve confirmée par les expériences que nous avons faites sur la pénétration intracellulaire des acides gras purs : ceux-ci pénètrent plus aisément dans les cellules que les graisses dont ils ont été extraits et ne restent pas confinés, comme une part importante de ces graisses, dans les espaces intercellulaires.

Par ailleurs, la surcharge en substances insaponifiables diverses, d'une huile facilement émulsionnable par les tissus, modifie considérablement sa pénétration dans les cellules et les noyaux.

Ainsi, une huile d'olive, normalement inactive, mais bien répartie à l'intérieur des cellules du parenchyme médullaire, demeure localisée dans les espaces intercellulaires lorsqu'elle se trouve surchargée d'un insaponifiable d'huile de baleine à 10 %, de stérols totaux d'huile de palme à 10 % ou de Vitamine A à 1 %.

Sa pénétration intracytoplasmique et intranucléaire est, par contre, favorisée par des surcharges plus modérées de ces mêmes produits : insaponifiable d'huile de baleine à 1 %, stérols totaux d'huile de palme à 0,1 et 1 %, Vitamine A à 0,1 %. L'insaponifiable de beurre de Karité à 10 %, d'huile de maïs à 0,1 %, le carotène à 0,1 et 1 %, le sitostérol à 0,1 % ont également des effets favorisants.

III. — CONCOMITANCE ENTRE LA BLESSURE ET L'INTRODUCTION DES LIPIDES ACTIFS

Les tumeurs médullaires ne se produisent pas :

— si l'on imprègne la tige de lipides actifs, préalablement à la blessure ;

— si on laisse les blessures se cicatriser avant de les recouvrir de lipides.

A. — Imprégnation de la tige par des lipides actifs préalablement aux blessures

Nous avons fait pénétrer des extraits lipidiques d'épithéliomas mammaires, des huiles d'arachide et de maïs, en entourant des tiges de *Pelargonium zonale* avec des manchons de coton imbibés. Au 14^e jour, les manchons sont retirés et des piqûres sont faites dans les tiges envahies de lipides.

Six semaines plus tard, il ne s'est produit aucune réaction hyperplasique, mais une simple cicatrisation.

Les préparations, colorées par le Noir Soudan, montrent un tissu cicatriciel peu abondant, formant une tache claire dans un parenchyme médullaire rempli de lipides.

Ces expériences devraient être reprises dans leur ensemble, et une étude complète devrait être consacrée aux possibilités de réaction du parenchyme médullaire soumis à l'envahissement lipidique, au cours des quinze premiers jours. Nous pourrions ainsi déterminer plus précisément si toute imprégnation préalable de la moelle rend impossible le déclenchement du processus hyperplasique, ou s'il existe, comme nous allons le voir pour la cicatrisation des blessures, une période pendant laquelle les deux facteurs, blessures et lipides actifs, exercent leur action de manière concomitante.

Les éléments dont nous disposons actuellement sont en faveur de cette hypothèse : il est incontestable que l'envahissement de la moelle par les lipides détermine au bout d'une quinzaine de jours, sinon un blocage, du moins des troubles profonds de différents mécanismes enzymatiques. Il n'y a donc rien d'anormal à ce que les expériences précédemment rapportées n'aient pu aboutir à la formation de tumeurs médullaires.

Ces résultats expliquent les effets disparates des essais de réinoculation près des tumeurs médullaires.

Nous avons appliqué, sur des entrenœuds blessés de *Pelargonium*, des extraits lipidiques d'épithélioma mammaire, dilués dans l'huile de coton. Au bout d'un mois, des tumeurs médullaires provoquent l'éclatement des tiges.

Des blessures nouvelles sont alors faites au voisinage des fentes d'écla-

tement — au-dessus et au-dessous de celles-ci — et sont recouvertes du même extrait lipidique, renouvelé trois fois au cours des cinq premiers jours.

Quarante jours plus tard on observe, sous ces blessures nouvelles, soit une cicatrization, soit une tumeur caractéristique de la moelle.

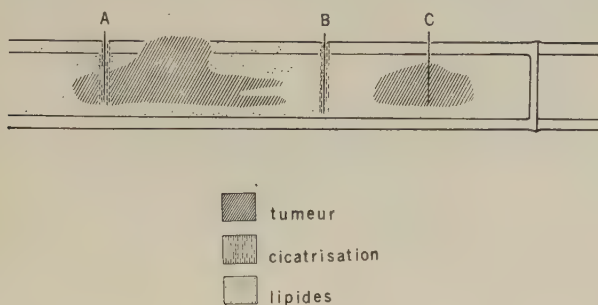


Fig. 28. — Réinoculations avec apport de lipides actifs dans un entrenœud déjà porteur d'une tumeur médullaire. Seule la répartition initiale des lipides correspondant au premier apport est figurée sur ce schéma. On constate que les piqûres faites en A et en B ne provoquent qu'une réaction cicatricielle malgré l'apport de lipides actifs, la blessure A a été faite dans la tumeur elle-même, la blessure B en dehors de la tumeur mais dans une région de la moelle renfermant déjà des lipides. Seule la blessure pratiquée au point C entraîne la formation d'une tumeur médullaire nouvelle : la moelle en cet endroit était dépourvue de lipides provenant de la première inoculation.

Ces réactions sont fonction de la répartition primitive des lipides dans la moelle :

— Si la nouvelle blessure est faite dans la zone où l'imprégnation lipidique est encore importante, à l'un des pôles de la tumeur initiale, aucune réaction ne se produit en dehors de quelques recloisonnements cicatriciels (Fig. 28 - A et B).

— Si, au contraire, la zone voisine de la tumeur initiale est exempte de lipides étrangers, les conditions habituelles de formation de la tumeur médullaire sont réalisées : celle-ci apparaît et se développe (Fig. 28 - C).

B. — Application de lipides actifs sur des tiges blessées en voie de cicatrization

Une graisse d'épithélioma mammaire a été apposée sur les zones cicatricielles des entrenœuds 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h et 192 h après les blessures. Tous les entrenœuds ont été examinés au 30^e jour.

Dans les deux premières séries (24 h et 48 h), des tumeurs médullaires se sont rapidement développées, avec éclatement des tiges et envahissement de la moelle par les lipides (Fig. 29 - A).

Dans les deux suivantes (72 h et 96 h), les tumeurs médullaires ne provoquent pas l'éclatement des tissus externes et enserrant une zone cicatricielle importante renfermant des lipides ; ceux-ci se trouvent, en outre, répartis dans la moelle non recloisonnée, l'apex de la tige et les nœuds inférieurs (Fig. 29 - B).

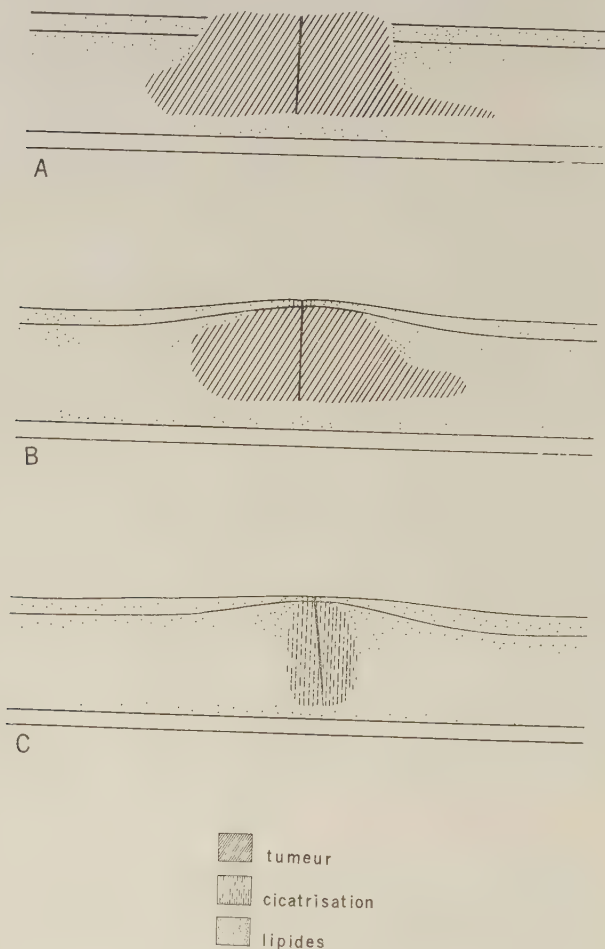


Fig. 29. — Schéma des réactions provoquées par l'introduction différée des lipides après blessures ; explications dans le texte.

Les deux dernières séries (120 h et 196 h) ne montrent que des réactions cicatricielles importantes, sans tumeur, malgré une pénétration normale des lipides et une répartition dans l'ensemble du végétal, analogue à celle des séries précédentes (Fig. 29 - C).

Il semble donc exister dans la formation des tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale*, sous l'effet de certains lipides, une phase de conditionnement analogue à celle qui a été signalée par BRAUN (1947 et 1948) et admise par KLEIN (1954) pour l'action d'*Agrobacterium tumefaciens*, la réaction des tissus se trouvant conditionnée par la libération d'un ou de plusieurs facteurs de blessures (« Wound sap » de KLEIN).

Il serait utile de vérifier — au cours de nouvelles séries d'expériences, — ce conditionnement de la réaction médullaire par la blessure, durant les premières vingt-quatre heures, le contact de la bactérie avec l'hôte ayant pu être réduit à quelques heures d'après BRAUN (1947). Nous savons déjà cependant que la tumeur se forme aussi bien lorsque le lipide actif est apposé 24 heures après la blessure, qu'au moment même où celle-ci est faite.

Il est par ailleurs impossible d'éliminer les lipides des tissus lorsqu'ils y ont été introduits. Cependant il semble que l'action de la température pourrait permettre une expérimentation analogue à celle qui a été faite par BRAUN (1947) pour *Agrobacterium tumefaciens*. Les modifications de température retentissent sur la perméabilité cellulaire, comme sur la viscosité des lipides. Une étude de ce facteur différencierait peut-être pour les lipides, comme BRAUN l'a fait pour la bactérie, la phase d'induction (bactéries + jus de blessures ou lipides + jus de blessures) de la phase de déclenchement (« promotion phase ») pour laquelle, selon KLEIN, l'auxine est indispensable.

L'expérimentation pourrait être conduite plus sûrement par la méthode d'application différée des lipides sur les orifices de blessures, en procédant à des applications successives, d'heure en heure, au cours des premières vingt-quatre heures. Cette méthode a été utilisée dans l'étude du crown-gall par RIKER (1923), de ROPP (1948), BRAUN et MANDLE (1948), KLEIN et KNUPP (1953). Elle a permis d'établir que la bactérie du crown-gall cesse de provoquer des tumeurs lorsqu'elle est introduite dans les tissus blessés plus de 6 à 7 jours après les lésions initiales. Sur des tiges décapitées ce temps est réduit à 48 heures. La présence d'un jus de blessure est indispensable pendant la période d'induction : si les tissus blessés sont lavés, la bactérie ne peut provoquer de tumeur ; celle-ci se forme, si les tissus lavés sont ensuite imprégnés d'un jus de blessure.

IV. — PRESENCE D'UN PARENCHYME MEDULLAIRE ADULTE

Nous avons tenté, au cours de plusieurs séries d'expériences, de déterminer la réactivité du parenchyme médullaire à différents étages du végétal.

Les sommités caulinaires réagissent par de simples cicatrisations, malgré une importante imprégnation lipidique.

Les tumeurs médullaires se produisent à partir du second entrenœud sous-apical ; les plus importantes se développent sur les entrenœuds comportant des parenchymes adultes.

Les assises périmédullaires sont très peu réactives, et les tumeurs se constituent essentiellement aux dépens de la région centrale de la moelle.

Elles peuvent apparaître sur des entrenœuds âgés d'un an, même de

deux ans ; mais la réaction est plus lente que sur les tiges de l'année, le développement tumoral moins important et les échecs nombreux. On constate, à l'occasion de ces échecs, une véritable réaction de défense : les cellules médullaires imprégnées de lipides sont refoulées au centre de la fente de blessure par un tissu cambiforme qui se subérise.

Des blessures, avec adjonction de lipides actifs, pratiquées dans les nœuds, n'entraînent que des cicatrisations. Dans quelques cas cependant, de petites hyperplasies médullaires se sont formées au voisinage des nœuds.

Les pétioles ne réagissent pas aux extraits lipidiques de tissus humains. Certaines huiles animales et végétales déterminent cependant des tumeurs parenchymateuses des pétioles, d'origine médullaire, avec éclatement des tissus externes, comme pour les tiges.

V. — FACTEURS EXTERNES

Des facteurs externes, qui ne doivent pas être négligés, influent sur les résultats.

A. — La température

L'élévation de la température, en diminuant la viscosité des lipides, favorise le développement des tumeurs médullaires.

Pour une huile de Ricin, dont la viscosité est de 1.000 centipoises à 20°, une température de 16° est défavorable, alors qu'elle permet une active diffusion de l'huile de colza (90 centipoises à 20°), de l'huile d'olive (77 centipoises à 20°) ou de l'huile de lin (48 centipoises à 20°).

Pour les graisses humaines, dont le point de fusion se situe autour de 17°, les températures les plus favorables au développement des tumeurs médullaires sont comprises entre 22° et 25°.

Le rôle de la température doit également être retenu pour ses effets sur la perméabilité cellulaire et sur le déroulement des processus enzymatiques au cours de la cicatrisation des tissus blessés.

B. — La saison

Nous avons remarqué, au cours d'expériences qui se sont déroulées pendant environ dix ans, que la formation des tumeurs médullaires était influencée par un facteur saisonnier, les résultats positifs étant plus constants au printemps et en été. De nombreuses séries expérimentales, commencées en septembre-octobre, sont demeurées négatives, alors que le pro-

duit employé avait conservé toute son activité et pouvait être utilisé efficacement pour des expériences faites en mars-avril de l'année suivante.

C. — La lumière

Des *Pélargoniums* étiolés, laissés 15-20 jours à l'obscurité complète avant traitement, cessent de réagir par la formation de tumeurs médullaires à des lipides actifs, si les plantes sont laissées à l'obscurité.

Des réactions s'ébauchent quand elles sont remises à la lumière.

Il convient de noter qu'à l'obscurité la cicatrisation est considérablement ralentie : après quinze jours, les orifices de blessures sont encore béants.

En résumé :

Les facteurs conditionnant la formation et le développement des tumeurs médullaires chez *Pelargonium zonale* sont les suivants :

- Une blessure profonde lésant un parenchyme médullaire adulte ;
- L'apposition d'un lipide actif sur l'orifice de la blessure avant l'achèvement des processus de cicatrisation ;
- Certaines conditions relatives à la température, la saison et l'éclairement qui font admettre que certains facteurs encore mal déterminés, liés sans doute à l'activité métabolique et hormonale de la plante, entrent également en jeu dans le déclenchement de l'hyperplasie réactionnelle.

CHAPITRE 4

LES RÉACTIONS DU PARENCHYME CORTICAL

Nous avons vu précédemment que le parenchyme cortical de *Pelargonium zonale* et de *Nicotiana tabacum* ne réagit à l'application de lipides, après blessure, que par la formation d'une barrière cicatricielle.

Chez d'autres plantes, par contre, ce parenchyme possède une sensibilité particulière. Un extrait lipidique d'épithélioma mammaire, appliqué sur des tiges blessées de Ricin, provoque de très importantes réactions du parenchyme cortical, comme nous l'avons déjà signalé (Fig. 3). Sur des tiges blessées de Melon et de Tomate, des réactions hyperplasiques de l'écorce se produisent également, le plus souvent aux dépens de l'assise sous-épidermique, constituant de petits nodules. Chez le Soleil, le Topinambour et le Chrysanthème, l'action des lipides se manifeste surtout dans les assises internes du parenchyme cortical.

C'est cependant chez *Ricinus sanguineus* que nous avons obtenu les réactions les plus constantes et les plus importantes du parenchyme cortical, aussi leur avons-nous consacré une étude particulière.

Selon les modalités d'introduction des lipides, les résultats ont été assez différents. C'est ainsi que nous avons été amené à discriminer les hyperplasies corticales provoquées par des applications externes de lipides sur les orifices de blessures, des réactions plus complexes — hyperplasies, hypertrophies, verrucosités externes — déterminées par des injections de lipides dans la cavité médullaire.

I. — HYPERPLASIES CORTICALES DU RICIN PROVOQUEES PAR DES APPLICATIONS EXTERNES

Les lipides actifs provoquent la formation et le développement sur l'hypocotyle, les entrenœuds inférieurs et médians de la tige de *Ricinus sanguineus*, d'excroissances anormales dont le volume, important à la base (Fig. 2), diminue graduellement vers les sommités caulinaires (Fig. 3), où elles ne sont plus constituées que par quelques assises recloisonnées.

Dans les premiers jours qui suivent le traitement, on observe, au niveau de l'hypocotyle et des entrenœuds inférieurs, des recloisonnements régu-

liers des assises externes du parenchyme cortical. Très vite, la multiplication devient anarchique. Un nodule cortical s'édifie, repoussant vers l'extérieur le collenchyme partiellement recloisonné. Les modifications subies par l'assise sous-épidermique sont plus discrètes et ne donnent lieu qu'à la formation de petits massifs cellulaires isolés.

Les régions parenchymateuses sous-stomatiques qui séparent les faisceaux du collenchyme sont, de façon très inconstante, le siège de petites verrucosités blanchâtres, dont les assises externes se subérisent rapidement au contact de l'air.

Il s'y ajoute dans l'hypocotyle des réactions hyperplasiques de l'endoderme (Fig. 30).

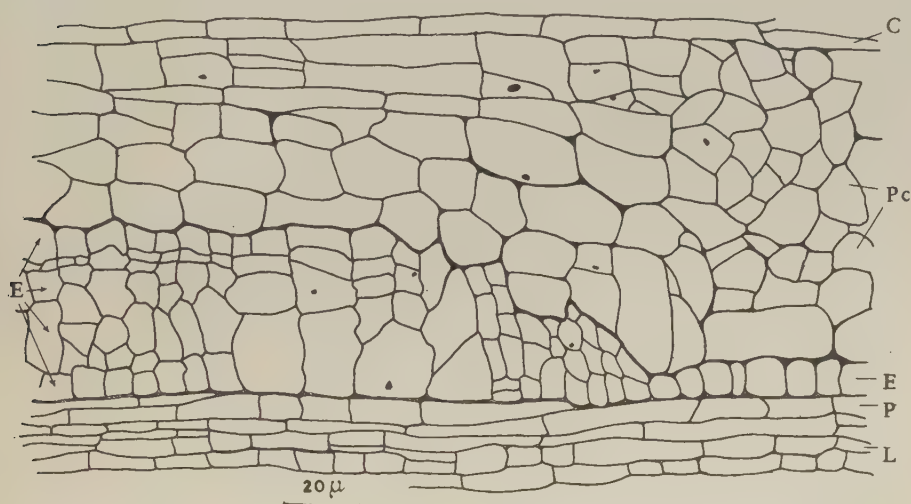


Fig. 30. — *Ricinus sanguineus* ; coupe longitudinale montrant dans l'hypocotyle le recloisonnement au 70^e jour de l'endoderme (E) sous l'effet d'une graisse d'épithélioma mammaire (extraite par le benzène) ; le parenchyme cortical (Pc) repoussé vers le collenchyme (C) subit également une hyperplasie qui apparaît nettement sur la partie droite du dessin.

P, péricycle ; L, liber.

Ces néoformations corticales s'étendent de part et d'autre des blessures initiales et peuvent atteindre jusqu'à 2 cm de long pour une saillie variant de 0,2 à 0,5 cm.

Au début, les lipides sont répartis dans les espaces intercellulaires de l'écorce ; puis, sous forme de globules et de fines gouttelettes dans le cytoplasme et les noyaux. Comme dans le cas des tumeurs médullaires, ces lipides disparaissent peu à peu du tissu hyperplasié.

Les noyaux sont généralement diploïdes, à un nucléole. On observe

cependant quelques noyaux volumineux, et surtout des noyaux à gros nucléoles présentant des cavernes. Nous n'avons pu procéder à l'étude des processus nucléaires et nucléolaires affectant ces noyaux avant l'intervention des premières mitoses ; celles-ci sont d'apparence normale.

II. — REACTIONS CORTICALES PROVOQUEES PAR DES INJECTIONS DE LIPIDES DANS LE CANAL MEDULLAIRE

Les injections de lipides dans le canal médullaire provoquent, selon la nature des huiles et graisses utilisées, des réactions du parenchyme cortical d'importance variable.

C'est ainsi que l'injection d'une graisse d'épithélioma mammaire dans



Fig. 31. — Hyperplasie du parenchyme cortical chez *Dahlia* après injection, dans la cavité médullaire, d'une graisse mammaire. Le parenchyme médullaire recloisonné repousse le collenchyme dont il provoque la rupture ainsi que des assises superficielles. 30^e jour. Coupe transversale.

le canal médullaire creux de *Dahlia variabilis* (Composées) provoque la formation, à la surface de la tige, de quelques saillies verruqueuses dues à une hyperplasie du parenchyme cortical (Fig. 31).

Le phénomène est plus net et plus constant dans le cas du parenchyme cortical de *Ricinus sanguineus*.

Les résultats obtenus par des applications externes nous ont amené à utiliser, comme l'avaient déjà fait de nombreux auteurs, le canal médullaire de chaque entrenœud comme un réservoir naturel pour les produits à expérimenter. La structure anatomique du Ricin qui individualise les entrenœuds par la présence d'un plancher nodal imperforé rend possible une telle expérimentation.

Par des injections de lipides d'origine humaine, nous avons obtenu systématiquement l'apparition de verrucosités externes en grand nombre, alors que celles-ci ne s'étaient produites que rarement à l'occasion des applications externes de lipides.

L'extension de nos recherches à de nombreux lipides établit que toutes les huiles et graisses capables, par leur diffusion, d'envahir l'écorce en provoquant l'embolie des méats et des espaces intercellulaires, peuvent se trouver à l'origine de telles verrucosités.

L'examen anatomique des verrucosités montre que celles-ci se forment généralement dans les cellules parenchymateuses sous-stomatiques qui se recloisonnent activement et s'organisent en lenticelles typiques (Pl. XIII, fig. 1) ou d'aspect moins caractéristique (Pl. XIII, fig. 2).

Ces verrucosités demeurent de faibles dimensions, lorsque les lipides sont inactifs. Elles acquièrent, au contraire, un volume parfois considérable sous l'effet des lipides actifs (Pl. II, fig. 4).

L'examen anatomique des tiges de Ricin permet d'observer des effets nettement hypertrophiques ou hyperplasiques, et des effets complexes où l'hyperplasie semble résulter d'une hypertrophie primitive des cellules.

A. — Hypertrophie cellulaire

Des hypertrophies cellulaires typiques, isolées, indépendantes de tout recloisonnement, peuvent être observées sous l'effet des huiles minérales.

Les lipides, par contre, exercent toujours une action plus complexe, due à leur pénétration intracellulaire, et il est exceptionnel que les cellules hypertrophiées n'aient pas subi quelques recloisonnements.

Cette hypertrophie se manifeste par une distension des parois qui s'opère dans un sens perpendiculaire à l'axe de la tige. Le cytoplasme est accolé aux parois, de même que le noyau. La partie centrale de la cellule est occupée par une énorme vacuole où n'apparaissent que rarement des globules lipidiques. Les espaces intercellulaires, les méats, sont envahis et complètement obstrués par les lipides.

Ces phénomènes d'hypertrophie peuvent atteindre, soit l'assise sous-épidermique (Pl. XIII, fig. 3), soit le collenchyme (Pl. XIII, fig. 4), soit les assises internes de l'écorce.

B. — Hypertrophie suivie d'hyperplasie

C'est le cas le plus général. On peut affirmer que toutes les huiles et graisses que nous avons utilisées ont provoqué, soit sur l'assise sous-épidermique (Fig. 32), soit sur les assises internes de l'écorce, au début de

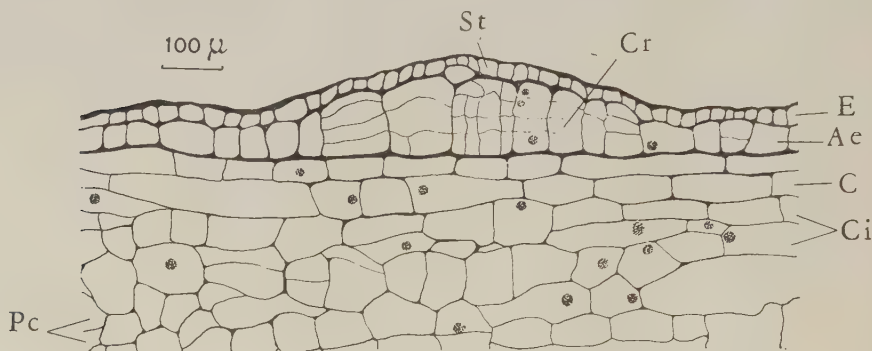


Fig. 32. — *Ricinus sanguineus*. Verrucosité formée uniquement aux dépens de l'assise sous-épidermique (Ae) par hypertrophie primitive des cellules qui se sont ensuite recloisonnées (Cr). Le point de départ du processus se situe sous un stomate (St). L'épiderme (E) et les deux premières assises du collenchyme (C) sont indemnes: On note quelques recloisonnements dans les assises internes du collenchyme (Ci) et les assises externes du parenchyme cortical (Pc). Coupe longitudinale. 70^e jour. Réaction provoquée par une injection de graisse mammaire humaine.

leur action, une hypertrophie cellulaire qui a été suivie aussitôt de recloisonnements.

Cependant, la nature et l'importance de ces recloisonnements permet de différencier nettement les lipides actifs des lipides inactifs.

C'est ainsi que de nombreuses huiles et graisses végétales et animales (cf. *infra* tableau V) provoquent des phénomènes hypertrophiques considérables dans les assises internes de l'écorce; la tige, souvent couverte de verrucosités, d'aspect tuméfié, est fortement épaissie. L'examen des préparations ne montre cependant que de discrets recloisonnements.

C. — Hyperplasie cellulaire

Elle n'est jamais absolument dissociée de l'hypertrophie. Cependant l'hyperplasie a, dans certains cas, un caractère dominant: il s'agit

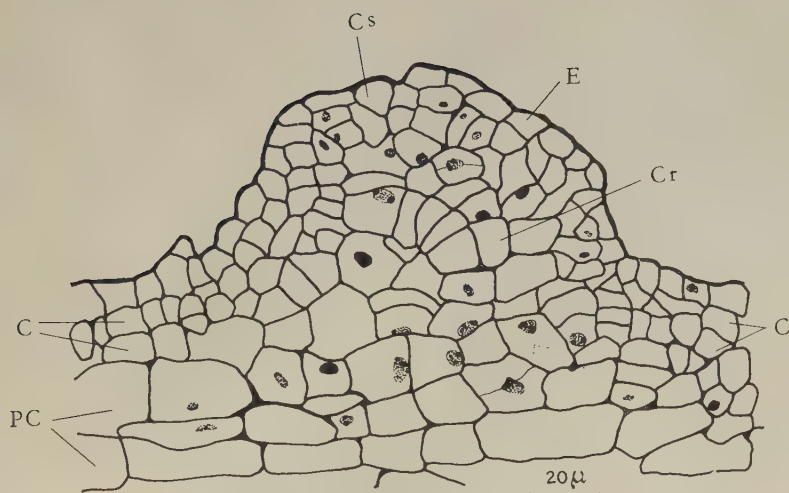


Fig. 33. — *Ricinus sanguineus*. Détail d'une verrucosité provoquée par injection de graisse mammaire humaine; 26^e jour; coupe longitudinale. Les cellules recloisonnées (Cr) du parenchyme cortical (PC) repoussent de chaque côté les cellules du collenchyme (C). L'épiderme (E) est partiellement desquamé; on remarque une chambre sous-stomatique (Cs) sous laquelle le processus s'est développé.



Fig. 34. — *Ricinus sanguineus*. Injection de graisse mammaire humaine; 26^e jour; coupe longitudinale. L'hyperplasie des cellules du parenchyme cortical (PC) provoque la formation de deux saillies verruqueuses composées de cellules parenchymateuses recloisonnées (Cr) qui refoulent le collenchyme (C) et provoquent des ruptures épidermiques.

d'huiles et de graisses actives qui, d'emblée, déterminent — une dizaine de jours après leur injection — une hyperplasie intense du parenchyme cortical (Fig. 33, 34 et 35).

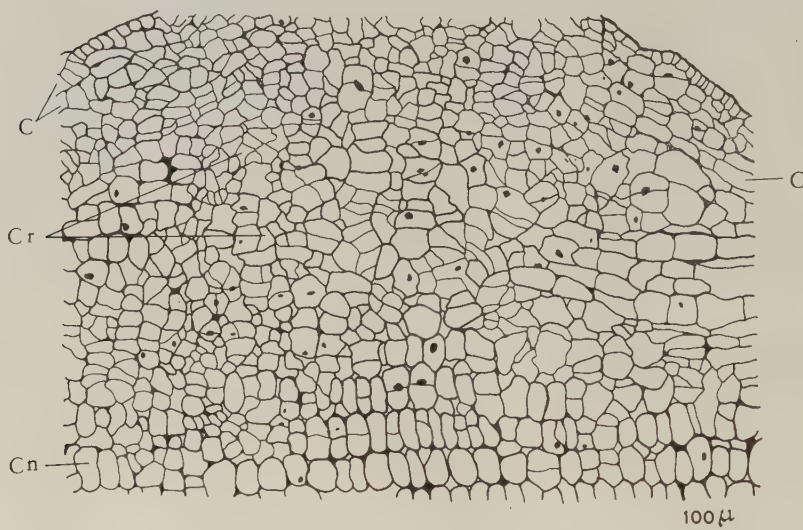


Fig. 35. — *Ricinus sanguineus*. Hyperplasie corticale intense provoquée par injection de graisse mammaire humaine ; 26^e jour ; coupe longitudinale. Les cellules parenchymateuses hyperplasiées (Cr) repoussent le collenchyme (C) et provoquent la rupture de l'épiderme (non figurée). Certaines cellules participant aux assises internes de l'écorce sont indemnes (Cn).

A ce point de vue, la graisse humaine, et les huiles d'arachide, d'olive, de coton, de palme et de lin, ont donné des résultats constants et caractéristiques (Pl. XVI, fig. 1). Une graisse d'épithélioma mammaire, fraîche, obtenue par compression, a provoqué notamment une réaction hyperplasique intense de l'écorce avec dédifférenciation d'un cambiforme refoulant les cellules non recloisonnées au centre des nodules hyperplasiques (Fig. 36). Ces hyperplasies corticales n'atteignent qu'exceptionnellement des dimensions importantes. Elles sont généralement liées à la présence de verrucosités éclatées à la surface de la tige. Ces verrucosités ou lenticelles vont s'accroître en même temps que le parenchyme cortical. La tige augmente d'épaisseur tandis que sa surface se couvre d'un réseau alvéolé (Pl. II, fig. 3, 4).

Les lipides sont répartis dans les espaces intercellulaires, dans le cytoplasme et les noyaux ; le plus souvent, ils demeurent abondants dans les cellules hyperplasiées, en raison de l'apport constant de lipides en



Fig. 36. — *Ricinus sanguineus*. Injection de graisse mammaire fraîche ; 60^e jour ; coupe longitudinale ; dessin schématique ; un tissu cambiforme (T.c.) a envahi les régions corticales, y constituant des nodules qui refoulent vers leur centre les cellules du parenchyme cortical (Pc) dont certaines sont hypertrophiées (Ch). L'épiderme (E) et le collenchyme (C) sont indemnes. Le cambium (Ca) a subi une nette hyperplasie.

provenance de la cavité médullaire (Pl. XIV, fig. 1). Il est exceptionnel de constater leur disparition, et la présence de simples reliquats soudanophiles dans les espaces intercellulaires et les méats.

Les noyaux ont fréquemment plusieurs nucléoles, et, souvent, de nombreux chromocentres ponctiformes. On remarque quelques noyaux très volumineux, des noyaux accolés, des cellules binucléées. Certains noyaux ont un aspect pycnotique.

D. — Tableau résumant les effets des lipides injectés dans le canal médullaire de *Ricinus sanguineus*

Nous avons résumé dans un tableau général les actions exercées par de nombreuses huiles et graisses injectées dans le canal médullaire de *Ricinus sanguineus*, ainsi que des huiles minérales et du squalène. Nous avons été amené à inclure dans ce tableau les réactions des tissus autres que l'écorce afin d'éviter des répétitions.

L'étude de ce tableau permet de formuler quelques remarques :

1) L'intensité de la pénétration intracellulaire des lipides paraît être sans rapport avec leur composition glycéridique, leur poids moléculaire, leur densité et leur siccativité. Cependant, les huiles d'animaux marins riches en acides fortement insaturés et en carbures ne pénètrent que faiblement. Il en est de même pour certaines huiles végétales (tournesol, noisette, soja, sésame, œillette, chenevis, maïs) et pour certains lipides d'origine animale (huiles de pieds de bœufs, de pieds de moutons) dont les compositions variées en acides gras ne permettent aucune hypothèse susceptible d'expliquer leur faible pénétration intracellulaire. Quant aux huiles minérales et à la lanoline pure anhydre, elles ne pénètrent pas dans les cellules : les premières constituent des produits inassimilables pour les végétaux, la seconde, douée d'une très haute viscosité, ne subit aucune translocation.

2) La coloration des préparations par la méthode de LORRAIN SMITH (Bleu Nil) ne permet d'obtenir des teintes roses que pour l'huile de Ricin et l'huile d'olive. Dans ces deux cas seulement, on trouve dans les tissus de la plante des glycérides non saturés, probablement des esters de l'acide oléique et de l'acide ricinoléique. Nous pouvons donc admettre que, dans tous les autres cas, les lipides observés dans les tissus s'y trouvent soit sous forme de glycérides (saturés ou non), soit d'acides gras, aucune réaction colorée spécifique ne permettant de les différencier.

3) Les huiles et graisses qui pénètrent facilement dans les cellules exercent généralement une action hyperplasiant sur le parenchyme cortical.

4) Les huiles et graisses qui pénètrent moyennement dans les cellules

provoquent tout d'abord une hypertrophie corticale suivie de recloisonnements plus ou moins intenses. Ces recloisonnements sont liés soit à des processus cicatriciels (ruptures épidermiques des verrucosités, fentes tissulaires, écartement des cellules par les lipides avec microblessures), soit à un déséquilibre cellulaire dû à des troubles de la respiration et du métabolisme hydrique.

5) Les huiles et graisses qui pénètrent faiblement dans les cellules déterminent soit d'intenses recloisonnements de l'assise sous-épidermique et du collenchyme (en particulier les huiles d'animaux marins), soit une importante hypertrophie des cellules corticales suivie de recloisonnements secondaires (huile de pieds de bœufs et de moutons, de tournesol, de noix, de soja, de sésame et d'œillette).

6) Les huiles minérales qui ne pénètrent pas dans les cellules provoquent des hypertrophies, suivies de manière très inconstante de quelques recloisonnements cellulaires.

7) L'activité hyperplasiant des lipides semble être indépendante, comme leur pénétration intracellulaire, de leur siccativité, de leur poids moléculaire et de leur densité, de leur composition glycéridique, de la nature des acides gras (saturés ou non saturés à une ou plusieurs doubles liaisons).

8) Si la graisse humaine a presque toujours donné des résultats positifs, les autres lipides actifs ne sont pas les mêmes que ceux qui déterminent, chez le *Pelargonium*, la formation des tumeurs médullaires.

En nous fondant uniquement sur l'examen des préparations anatomiques, nous pouvons ranger parmi les huiles actives sur le parenchyme cortical de *Ricinus sanguineus* : les huiles d'arachide, d'olive, de coton, de palme et de lin, toutes inactives ou faiblement actives sur la moelle de *Pelargonium*.

TABLEAU V

Action de graisses, d'huiles organiques, d'huiles minérales et de squalène injectés dans le canal médullaire de *Ricinus sanguineus*.

Observations et fixations faites 50 jours après le début des expériences.

Signes conventionnels :

HO : hypertrophie.

HP : hyperplasie.

+++ : action intense ou pénétration intracellulaire excellente.

++ : action nette ou bonne pénétration.

++— : action ou pénétration bonnes mais inconstantes.

—+ : action faible ou pénétration modérée.

+— : action très faible ou inconstante ou pénétration très faible.

— : pas d'action ou pas de pénétration.

HUILES OU GRAISSES	COMPOSITION <i>acides gras</i> (<i>principaux</i>)	Pénétration intra- cellulaire	Epid.	Assise ss- épidermique		Collenchym.	
			HP	HP	HO	HP	HO
Gr. humaines graisses mammaire et abdom.	oléique palmitique	+++	+-	+	+		
Acides gras totaux gr. humaines		+++					
H. d'arachide	linoléique palmitique oléique	+++		-			
Acides gras totaux arachide		+++					
H. de coton	linoléique palmitique oléique	++					
H. d'olive	oléique	++					+
H. de grignons d'olive	linoléique oléique	++		++			
H. de pépins de citrouilles	linoléique oléique	++		++			
H. de lin	oléique linoléique linoléinique	+		+			
H. de colza raffinée	érucique oléique linoléique	+					++
H. de colza brute	id.	+		++		++	
H. de noix	linoléique oléique	+		++		++	
H. de coco	laurique myristique caprique	+		++			
H. de ricin	ricinoléique oléique	+		++			
H. de pépins de raisins	linoléique oléique	+		++			
Tall oil bidistillé	acides insaturés en C18	+					
H. de palmiste	palmitique oléique	+	+			++	
H. de palme	id.	+		++			

r. cortic.	Péricyc. Cambium		Par. vasc.	Par. médullaire		OBSERVATIONS
P	HO	HP	HP	HP	HO	
+		+-	+-	+-	++	Disposition anarchique des cellules corticales hyperplasiées ; nombreuses verrucosités de recloisonnement ; réact. cambiales et vasc. avec graisse fraîche.
					++	Faible diffusion intratissulaire ; action toxique.
++					++	Disposition anarchique des cellules corticales hyperplasiées ; nombreuses verrucosités de recloisonnement.
		+++			++	Production de racines courtes émergeant des tiges.
+			+	++	+	
+	+++		++	+++	+++	Activation des formations secondaires, différenciées essentiellement en tissus ligneux. Au bleu Nil : color. rose (glycéride non saturé).
+				+++		
+	+++		++	+++	++	Fonctionnement irrégulier du cambium avec différenciation de tissus ligneux.
+	++	+-	+	++	+++	Fonctionnement irrégulier du cambium ; recloisonnements importants dans la région périmédullaire.
+	++				+	+++
+				++		Hyperplasie corticale localisée entre les piliers collenchymateux.
++	+++	+-				Verrucosités sans éclatement par replis externes de l'écorce.
+	+			++	++	Hyperplasie corticale localisée entre les piliers collenchymateux.
+				++		Au bleu Nil, coloration rose des méats et à l'intérieur des vaisseaux caractérisant un glycéride non saturé.
++				+		Présence d'arcs corticaux hyperplasiés.
+	++	+-		++		Nécroses ; formation de liège externe.
				++	+	Verrucosités dues nettement à des phénomènes d'hypertrophie et de tension des cellules corticales.
+	+++			++	+-	Id.

HUILES OU GRAISSES	COMPOSITION <i>acide gras</i> (<i>principaux</i>)	Pénétration intra- cellulaire	Epid. HP	Assise ss- épidermique			Collenchym	
				HP	HO		HP	H
H. de poissons en- tiers	palmitique myristique insat. C16-C22	+	+	+++			+++	
H. de sardines en- tières	oléique-palmit. stéarique clupanodique	+		++			++	
H. de foie de mo- rue	stéarique palmitique clupanodique	+—		+++			++	
H. de foie de pois- sons	id.	+—		+++				
H. de phoque	palmitique myristique insat. C16-C22	+—		+++				
H. de spermacéti (baleine)	palmitique laurique, myrist. + alcools gras	+—						
H. de pieds de bœufs	oléique hexadecénique	+—		+				
H. de pieds de moutons				++				
H. de tournesol	linoléique oléique	+—						
H. de noisette	oléique	+—						
H. de soja	linoléique oléique	+—						
H. de sésame	oléique linoléique	+—						
H. d'œillette	linoléique oléique	+—		++	++			
H. de chenevis	linoléique linoléénique	+—		++				
H. de maïs brute	oléique linoléique	+—						
Lanoline	stéarique, palmit. oléique, cérotique lanocérique	—						
H. de vaseline		—						
H. de paraffine		—						
Squalène pur		??						+

Par. cortic.		Péricyc. Cambium		Par. vasc.	Par. médullaire		OBSERVATIONS
HP	HO	HP	HP	HP	HP	HO	
					+		
+			++	++			La zone ligneuse est nettement épaissie ; on note des lipides abondants dans les cellules cambiales.
+—						++	
+	+++		+		++		Fonctionnement irrégulier du cambium : troubles de la lignification.
+—	+				+		
+	+++						
+	+++		++	++	++	++	Abond. des formations ligneuses.
++				++		+—	Id.
+	+++		++				Troubles du fonctionnement de l'assise génératrice libéro-ligneuse, du cambium et de la lignification.
+	+++						
+	+++					+	Pénétration intracellulaire des lipides uniquement dans une zone recloisonnée du parenchyme cortical.
+	+++				+		
+	+++				+	++	Recloisonnements corticaux nettement secondaires à l'hypertrophie des cellules.
					++		
					+		
					++		Très mauvaise diffusion de la graisse pure (anhydre ou même hydratée) trop compacte.
+—	++—				+		Nombreuses verrucosités non éclatées dues à l'hypertrophie des cellules corticales ; nombreux noyaux à 2-3 nucléoles ; coloration jaune après bleu Nil.
+—	++—						Id., mais pas de réaction spécifique au bleu Nil.
							Grande toxicité du squalène, qui entraîne rapidement la nécrose complète de la plante : aspect desséché.

CHAPITRE 5

FACTEURS CONDITIONNANT LA FORMATION ET LE DEVELOPPEMENT DES HYPERPLASIES CORTICALES DE RICIN

Nous étudierons brièvement les facteurs étiologiques et ceux dont dépend le développement des hyperplasies corticales chez *Ricinus sanguineus*.

I. — FACTEURS ETIOLOGIQUES

On retrouve pour les hyperplasies corticales de Ricin, quel que soit le mode d'introduction des lipides, les deux facteurs principaux mis en évidence dans la formation des tumeurs médullaires de *Pelargonium* : nécessité d'une blessure et introduction d'un lipide actif.

A. — Nécessité d'une blessure

Les hyperplasies corticales ne se produisent à la suite d'applications externes de lipides que si le parenchyme cortical est atteint par une ou plusieurs blessures. Des badigeonnages de tiges intactes avec des lipides actifs n'entraînent aucune réaction.

Lorsque des lipides sont injectés dans le canal médullaire, la réaction hyperplasique ne se produit pas seulement près des orifices d'injection, mais sur toute l'étendue de l'entrenœud.

En réalité, par la formation de verrucosités qui, presque toutes, éclatent et laissent sourdre des gouttelettes lipidiques, chaque entrenœud subit une multitude de microblessures dont certaines peuvent se trouver à l'origine d'importantes hyperplasies corticales.

La meilleure preuve en est, qu'en l'absence de ces verrucosités, les lipides les plus actifs n'entraînent que des processus hypertrophiques ou demeurent sans effets.

B. — Introduction d'un lipide actif

Nous avons vu sur le tableau V les résultats obtenus par injection de nombreuses huiles et graisses.

Comme nous l'avons déjà remarqué en commentant ce tableau, la plupart des lipides exercent sur la région corticale des effets complexes. Seuls certains d'entre eux déterminent, de manière constante, une hyperplasie corticale importante : la graisse humaine, les huiles d'arachide, d'olive, de coton, de palme et de lin.

*
* *

II. — FACTEURS AGISSANT SUR LE DEVELOPPEMENT DES HYPERPLASIES CORTICALES

Le développement des réactions corticales est lié aux possibilités de diffusion et de pénétration intracellulaire des huiles et graisses actives.

A. — Diffusion des huiles et graisses

Les huiles et graisses actives provoquent, selon leur diffusion dans les tissus de la plante, des hyperplasies d'intensité variable.

En raison de sa haute viscosité, l'huile de Ricin diffuse peu et n'entraîne que quelques recloisonnements dans l'écorce et la formation de petits massifs sous-épidermiques. Diluée, elle devient plus active.

De même, si l'on augmente la viscosité d'une graisse abdominale, en la diluant dans la lanoline anhydre, le nombre des verrucosités externes diminue, et l'hyperplasie corticale devient très modérée.

Cependant, si l'on diminue la viscosité de cette même graisse abdominale en la diluant dans de l'huile de coton, on constate également une perte d'activité. Celle-ci ne peut s'expliquer que par la dilution d'un facteur actif dont l'efficacité se réduit et peut même cesser, alors que la pénétration intracellulaire de la graisse pure ou diluée demeure sensiblement la même.

B. — Quantités injectées

La réaction corticale est nettement proportionnée dans son intensité à la quantité de lipides actifs injectée dans la cavité médullaire.

Des injections de 0,25 ml ou de 0,5 ml par entreœud, chez des Ricins

de 60 à 80 cm de haut, n'ont pas donné de résultats, sauf vers les sommités caulinaires où le canal médullaire est très étroit.

Pour obtenir une bonne réaction, il faut injecter des lipides actifs en quantité suffisante pour remplir l'entrenœud aussi complètement que possible, tout en évitant des coulées par les points d'injection.

Les verrucosités ne se forment en effet que sous une tension interne provoquée par les lipides, en colonne dans la cavité médullaire. Leur éclatement permet, par les blessures qu'il implique, la formation et le développement de l'hyperplasie.

Les quantités injectées par GARRIGUES, dans des conditions expérimentales cependant analogues aux nôtres, n'étaient pas suffisantes pour permettre à cet auteur d'observer la formation de verrucosités et de l'hyperplasie corticale.

EN CONCLUSION : La notion de conditionnement que nous avons évoquée, à propos des tumeurs médullaires, n'est donc pas étrangère non plus aux problèmes soulevés par la formation et le développement des hyperplasies corticales du Ricin sous l'effet des lipides actifs.

CHAPITRE 6

RECHERCHE DE LA FRACTION ACTIVE

Parvenu à ce stade de nos recherches, nous avons tenté de préciser, dans les mélanges complexes que constituent les lipides actifs, les fractions responsables des réactions médullaires et corticales.

Nous avons étudié les effets des constituants des lipides actifs sur les tiges de *Pelargonium* et de Ricin, en procédant à une expérimentation et à la comparaison de deux huiles très voisines, de même origine botanique, mais d'activité différente. Nous avons ensuite tenté de rechercher la fraction active parmi les substances insaponifiables.

I. — EFFETS DES CONSTITUANTS DES LIPIDES ACTIFS

A. — Expérimentation

Les essais ont été faits avec des produits provenant de laboratoires de Recherche, de laboratoires pharmaceutiques et de saponifications opérées par nos soins.

Nous avons ainsi étudié les effets, sur la tige blessée de *Pelargonium*, de glycérides, de phospholipides, des acides gras, d'alcools gras, d'hétéroauxines et d'insaponifiables bruts.

Dans la tige de Ricin nous avons opéré des injections de triglycérides, d'acides gras et d'insaponifiables bruts.

1°) Glycérides

Il est très difficile de trouver dans le commerce des triglycérides, des di ou des monoglycérides purs. Nous avons seulement obtenu un produit dénommé « trioléine » (Rhône-Poulenc) qui s'est révélé inactif pour les tiges de *Pelargonium* et nécosant pour les tiges de Ricin.

L'estérification des acides gras par le glycérol permet de synthétiser

les glycérides disloqués par la saponification ; nous avons pu ainsi expérimentalement des triglycérides d'huile d'arachide, qui se sont montrés inactifs.

2°) *Phospholipides*

Deux lécithines de Soja n'ont provoqué aucune réaction sur les tiges de *Pelargonium*.

3°) *Acides gras*

Les acides gras totaux de graisse humaine n'ont jamais exercé d'action tumorigène sur les tiges blessées de *Pelargonium* et de Ricin, qu'ils aient été employés purs ou dilués dans la lanoline, l'huile de coton ou l'huile de paraffine.

De même les acides gras totaux d'huile d'arachide ne provoquent sur la tige de *Pelargonium* que des ulcérations superficielles, fréquemment à l'origine de nécroses des entrenœuds blessés.

Injectés dans les tiges de Ricin, ils provoquent une rhizogénèse importante aux dépens du péricycle sur tous les entrenœuds, ainsi que quelques verrucosités externes isolées.

Les acides caprylique, caprique, caproïque entraînent en 48 heures des ulcérations profondes des tiges de *Pelargonium*. Les acides stéarique, palmitique, laurique et myristique demeurent sans effets.

4°) *Alcools gras*

La série des alcools gras reste inactive pour la tige de *Pelargonium*, sauf le décanol et l'octanol qui provoquent des ulcérations.

5°) *Hétéro-auxines*

Il est bien connu que les huiles et graisses animales et végétales renferment de faibles quantités d'auxines.

Les effets des auxines sur les végétaux ont fait l'objet de tant de travaux qu'il ne saurait être question même d'en donner un aperçu.

Rappelons simplement que les effets des régulateurs de croissance sont très différents selon qu'ils sont expérimentés *in vivo* sur les plantes, ou *in vitro* sur des explantats dépourvus de leurs corrélations physiologiques normales.

Dans le premier cas qui s'insère dans le cadre de nos expériences, les régulateurs de croissance n'agissent généralement pas sur les parenchymes médullaire et cortical, mais sur le parenchyme péricyclique, le cambium et le parenchyme vasculaire.

Nous avons tenu à vérifier ces résultats sur notre matériel et avons fait agir des hétéro-auxines sur plusieurs centaines d'entrenœuds blessés de *Pelargonium zonale* et de *Ricinus sanguineus*.

L'acide indole- β -acétique, l'acide indole butyrique et l'acide naphthalène acétique, appliqués en pâtes lanolinées, en solutions aqueuses et huileuses, à des concentrations variant de 0,001 % à 3 %, ne modifient pas le déroulement normal de la cicatrisation dans les parenchymes médullaire et cortical.

Ces hétéro-auxines agissent essentiellement sur le parenchyme péricyclique et le cambium, déterminant la formation de massifs tumoraux, constitués par des touffes de racines (Pl. I, fig. 13 et 14) et des nodules hyperplasiques où se différencient des formations cribro-vasculaires. Des concentrations assez élevées, de l'ordre de 2 à 3 %, provoquent des réactions hyperplasiques du parenchyme vasculaire.

Il convient donc de retenir que les hétéro-auxines n'exercent *in vivo* aucune action sur les parenchymes médullaire et cortical, et que les concentrations permettant d'obtenir des réactions hyperplasiques des autres tissus ne sont pas physiologiques.

En toute hypothèse, les concentrations, du reste très faibles, des auxines dans les lipides d'origine animale ou végétale, ne peuvent expliquer que les effets de ces lipides sur le parenchyme vasculaire, le cambium et le péricycle sur lesquels nous reviendrons au chapitre 7.

6°) *Insaponifiables bruts*

Nous avons utilisé des insaponifiables bruts de graisse humaine, d'huile de baleine et d'huiles végétales.

a) INSAPONIFIABLES DE GRAISSE HUMAINE

A la suite de saponifications portant sur des graisses d'origine mammaire et abdominale (1), nous avons obtenu de 0,5 à 0,8 % d'insaponi-

(1) Il nous paraît utile de rappeler ici les principales caractéristiques de la graisse humaine, telles qu'elles ont été données dans un récent travail par VAGUE et GARRIGUES :

Poids spécifique à 20° : 0,9122 ; indice de réfraction à 20° : 1,4690 ; indice de saponification : 192,4 ; indice d'iode (méthode de HANUS) : 91,7 ; indice d'acétyle : 3,6.

Composition en acides gras : acide arachidonique : 1,03 % ; acide linoléique : 8,35 % ; acides mono-éthénoïques : 55,7 % ; acides saturés : 34,8 %.

Phospholipides : 3 % (THOMAS indique 0,08 %).

Insaponifiables : 0,37 % (d'après ECKSTEIN), 0,65 % (d'après CALENDRA et CATTANO).

fiabiles bruts : substance rougeâtre, très sirupeuse, dégageant une odeur *sui generis*.

Apposés purs sur des blessures de tiges de *Pelargonium zonale* ou de *Ricinus sanguineus*, ces insaponifiables déterminent la formation de tumeurs médullaires de type habituel, qui se développent souvent sous des nécroses assez importantes, et une hyperplasie corticale chez *Ricinus sanguineus*. Ces réactions s'accompagnent souvent d'une hyperplasie modérée du cambium et du parenchyme vasculaire.

Les insaponifiables bruts de diverses graisses humaines (trochantérienne et abdominale féminines, abdominale et lombaire masculines) isolés au Laboratoire de M. le Pr. VAGUE ont également provoqué des tumeurs médullaires sur la tige de *Pelargonium zonale*.

Les insaponifiables bruts conservent leur activité de nombreux mois après les saponifications, malgré l'oxydation certaine des produits, simplement conservés à la température de 3-4°. Le facteur actif qu'ils renferment n'est donc pas modifié par les phénomènes d'oxydation. Il est par ailleurs thermostable puisque des graisses extraites par simple ébullition d'un tissu adipeux dans l'eau déterminent également la formation de tumeurs médullaires.

En raison de leurs effets toxiques, les insaponifiables bruts ont été dilués dans une huile inactive. Une telle expérimentation a été conduite sur *Pelargonium zonale* avec des insaponifiables provenant d'une graisse d'épithélioma mammaire, dilués dans divers solvants.

α. Dilutions dans la lanoline anhydre à concentrations égales et dans l'huile de paraffine à concentrations variées.

Malgré la grande viscosité de l'emplâtre lanoliné et sa très faible pénétration dans les tissus, quelques tumeurs médullaires se sont produites.

Les résultats sont extrêmement irréguliers avec l'huile de paraffine et ne permettent aucune conclusion valable. L'huile de paraffine demeure en effet confinée dans les espaces intercellulaires et la pénétration intracellulaire de l'insaponifiable se fait très irrégulièrement.

β. Dilution dans l'huile de coton à des concentrations variées.

L'expérience a porté sur 167 entrenœuds blessés de *Pélargoniums* ; elle a duré 22 jours.

Les résultats sont rapportés sur le tableau VI et le graphique qui le complète (Fig. 37). L'huile de coton seule est inactive (Pl. I, fig. 1), ne provoquant que des îlots réactionnels autour de groupes cellulaires nécrosés dans la moelle. Enrichie en insaponifiables, elle détermine la formation de tumeurs (Pl. I, fig. 2 et 3) dont le nombre et l'importance sont fonction

croissante de la concentration en insaponifiables. Dans les tumeurs médullaires, les nécroses partielles que provoque l'huile de coton sont englobées dans le parenchyme hyperplasié.

TABLEAU VI

Concentrations en insaponifiables	Nombre d'entre-nœuds	Tumeurs Nombre	%	Éclatements des tiges	Cicatrisations	Nécroses
0,5 %	20	1	5 %	—	++	+
1 %	20	4	20 %	+	++	+
2 %	25	7	28 %	+	++	+
5 %	23	12	56 %	+	++	+
10 %	22	17	77 %	++	+	+
25 %	20	20	100 %	+++	—	—
Huile de coton pure	37	0	—	—	++	+

Le nombre des tumeurs et leur importance (éclatements de tiges) croît proportionnellement à la concentration en insaponifiables provenant de la graisse d'épithélioma mammaire. Cet insaponifiable était dissous dans l'huile de coton elle-même inactive. Des zones nécrotiques sont observées dans la moelle à peu près pour toutes les concentrations ; elles sont dues à un effet toxique de l'huile de coton.

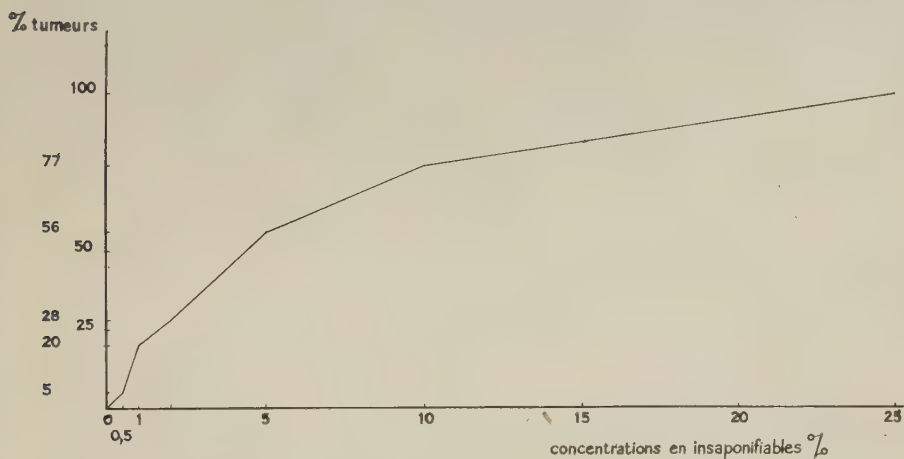


Fig. 37. — Graphique d'interprétation du tableau n° 6. Le pourcentage de tumeurs obtenu est nettement proportionnel à la concentration des insaponifiables dans l'huile de coton.

b) INSAPONIFIABLE D'HUILE DE BALEINE

Un insaponifiable brut d'huile de Baleine (produit blanc cristallisé) s'est révélé très toxique pour le *Pelargonium* aux concentrations de 0,1 %, 1 % et 10 % dans l'huile d'olive, sans induction de tumeurs médullaires.

c) INSAPONIFIABLES D'HUILES ET DE GRAISSES VÉGÉTALES

L'insaponifiable de beurre de Karité, dissous dans l'alcool à 95° ou le benzène, et repris dans l'huile de foie de morue ou l'huile d'olive, à des concentrations variées allant jusqu'à 10 %, reste inactif.

L'insaponifiable d'huile d'arachide, employé pur, est inactif : il se solidifie à la surface des tiges sans y pénétrer. Il devient actif quand on le dilue dans l'huile d'olive ou de coton, ou même dans les triglycérides provenant de l'huile d'arachide d'origine. Cet insaponifiable, injecté dans le canal médullaire, provoque alors, avec la formation de verrucosités externes, des boursouffures des tiges de Ricin, dues à une intense hyperplasie corticale.

Un insaponifiable d'huile de Maïs a été légèrement actif sur *Pelargonium zonale* à la concentration de 0,1 % dans l'huile d'olive, et toxique aux concentrations de 1 % et 10 %. Ce dernier résultat, en contradiction apparente avec l'activité intense d'une huile de Maïs brute que nous avons précédemment utilisée, nous conduit à souligner les grandes variations d'activité des huiles et graisses végétales et à comparer, avant de signaler les effets des fractions d'insaponifiables, les caractères constitutifs de deux huiles de même origine botanique, l'une active, l'autre inactive.

**B. — Comparaison des caractères constitutifs de l'huile d'olive
et de l'huile de grignons d'olive**

Les huiles d'olive s'étant généralement montrées complètement inactives sur la moelle de *Pelargonium*, alors que les huiles de grignons provoquent la formation rapide de tumeurs importantes, nous avons pensé que la comparaison de leurs caractères constitutifs pourrait mieux orienter nos recherches en vue de l'identification de la fraction active.

L'huile d'olive est extraite par pressions successives, à froid et à chaud, de la pulpe du fruit. A l'issue de ces opérations, la pulpe résiduelle renferme encore 10 à 12 % d'huile qu'on extrait à l'aide de solvants organiques, en particulier le trichloréthylène. Selon FUHRMANN (1954) cet extrait, appelé huile de grignons d'olive, « constitue une source concentrée de matières premières pour l'étude de l'insaponifiable d'huile d'olive ».

La différence d'action de ces deux huiles sur la tige de *Pelargonium* n'est pas liée aux teneurs en acides gras.

Dans le domaine des insaponifiables, par contre, il existe dans l'huile de grignons des fractions non mentionnées à propos des huiles de pression :

- des stérols dextrogyres ;
- des alcools gras ;

— des substances résineuses amorphes, représentant la moitié de l'insaponifiable total.

On trouve également une concentration supérieure en :

- carbures paraffiniques ;
- β -sitostérol ;
- ergostérol ou provitamine D ;
- pigments caroténoïdes.

Revenant sur quelques expériences que nous avons faites avec de nombreuses huiles et graisses, nous pouvons établir quelques comparaisons :

— Les carbures sont signalés dans la plupart des huiles et graisses. Les huiles minérales se sont toujours montrées inactives. Les nombreuses expériences faites avec des hydrocarbures cancérogènes sont toutes demeurées négatives (GARRIGUES 1944 ; MANIL 1950). Nous avons de même échoué dans des tentatives de « cancérisation » de la tige de *Pelargonium* par du méthylcholanthrène en solution huileuse.

— Le β -sitostérol est le phytostérol dominant de l'huile de coton inactive et de la tall-oil nécosante.

— L'ergostérol est une des fractions essentielles de l'insaponifiable d'huile de foie de morue et de toutes les huiles de foie de poissons presque toujours inactives.

— Les pigments caroténoïdes sont abondants dans les huiles de foie de poissons et dans le concentré caroténé d'huile de palme faiblement tumorigène.

— Les substances résineuses amorphes se retrouvent en abondance dans la tall-oil bidistillée provenant de la pulpe de bois de pin et dans l'huile de coton. Il est vrai que la constitution réelle de ces substances est très variable.

— Les alcools gras sont abondants dans les huiles de foie de poissons.

— Il reste essentiellement les stérols dextrogyres non identifiés, au sujet desquels FUHRMANN s'exprime ainsi : « C'est une substance cristalline, donnant les réactions caractéristiques des stérols, de point de fusion 164-167°, substance que nous n'avons pas encore réussi à obtenir à l'état pur ».

Nous n'avons pas eu la possibilité d'expérimenter cette fraction de l'insaponifiable d'huile de grignons.

La comparaison de deux huiles de même origine botanique, mais d'effets différents, confirme les expériences précédemment rapportées sur la présence du facteur actif dans l'insaponifiable, et nous conduit à le ranger momentanément, et avec toutes les réserves qui s'imposent, parmi les stérols dextrogyres.

Toutes les huiles et graisses actives renferment des fractions stéroliques. Celles-ci sont encore généralement mal connues à l'heure actuelle. Leur importance dans les graisses de dépôt chez l'Homme a été récemment révélée par les travaux de VAGUE et GARRIGUES (1955 et 1956).

II. — ESSAIS DE DIVERSES FRACTIONS D'INSAPONIFIABLES

Les observations que nous avons faites, en particulier au sujet des huiles d'olive, nous ont amené à rechercher expérimentalement parmi les insaponifiables quelle pouvait être la fraction active.

Nous n'avons pas opéré le fractionnement des insaponifiables et nos recherches dans ce domaine ont été limitées à l'essai de fractions connues qui ont été mises à notre disposition par des laboratoires de Recherche ou des laboratoires pharmaceutiques. Cette expérimentation a été conduite uniquement sur la tige de *Pelargonium zonale*.

A. — Stérols

1°) LE CHOLESTÉROL non purifié, du commerce, utilisé à diverses concentrations dans des solvants huileux inactifs, n'a pas modifié la cicatrisation normale des tissus. Dans la moelle apparaissent seulement quelques nécroses localisées, avec recloisonnements concentriques des cellules voisines. Il convient de rappeler ici les très nombreuses expériences que nous avons faites avec la lanoline pure — anhydre ou hydratée — très riche en cholestérol et en lanostérine, qui sont toutes demeurées négatives.

2°) HORMONES ANIMALES. — La testostérone, l'oestradiol, la progestérone, l'acétate de désoxycorticostérone et la cortisone ont été employés sous leur forme cristallisée. Dissoutes dans le chloroforme et reprises à la concentration de 0,1 % dans l'huile d'olive, ces hormones n'ont entraîné aucune néoformation médullaire. Cette expérience devrait être reprise en variant les concentrations.

Nous avons noté seulement pour l'oestradiol et la progestérone des effets toxiques, avec nécroses des tiges.

3°) PHYTOSTÉROLS.

a) Les stérols totaux de l'huile de palme à 0,1 %, 1 % et 10 % dans l'huile d'olive ont été inactifs.

b) Le β -sitostérol, à 0,5 % dans l'huile de foie de morue, ne provoque pas de réaction médullaire, mais des recloisonnements péricycliques avec, très exceptionnellement, néoformation de racines émergeant de la blessure vers le 20^e jour. Ce phytostérol ne s'est pas montré actif aux concentrations de 0,1 % et 1 % dans l'huile d'olive.

c) L'ergostérol cristallisé, dissous, comme les hormones animales cristallisées, dans le chloroforme, et repris à la concentration de 0,1 % dans l'huile d'olive, n'a également provoqué aucune réaction notable.

B. — Pigments caroténoïdes — Vitamine A

1°) CAROTÈNE PUR. — De nombreuses expériences avec du carotène pur inséré directement dans les tissus, ou bien en solution chloroformée, en pâte lanolinée, en solutions huileuses, sont demeurées infructueuses.

A 0,1 % et 1 % dans l'huile d'olive, on observe seulement des effets toxiques généralisés, avec nécroses des tiges.

2°) CONCENTRÉ CAROTÉNÉ. — Un concentré caroténé d'huile de Palme, par contre, s'est révélé actif dans 30 % des cas environ. Ce concentré, dont la teneur en carotène était de 5,3 % environ, avait été obtenu par méthanolyse de l'huile de palme, suivie de la distillation des esters méthyliques. Ce composé, très sirupeux à la température du laboratoire, contient probablement moins de triglycérides saturés (tripalmitine et dipalmitostéarine), et plus de triglycérides non saturés, de di et de monoglycérides saturés que l'huile de palme : c'est ce support glycéridique qui permet la diffusion intratissulaire et la pénétration intracellulaire de ce produit.

Au début de la diffusion de ce concentré caroténé, les entrenœuds supérieurs et l'apex prennent une teinte rouge, qui s'atténue peu à peu pour disparaître presque complètement vers les 20°-25° jours ; on ne retrouve plus à ce moment de cristaux de carotène dans les tissus. La comparaison avec un échantillon, placé entre lame et lamelle, permet de préciser que le carotène s'oxyde et perd sa coloration en une dizaine de jours.

L'extrême richesse de ce concentré en carotène, comparée à l'inconstance des résultats au point de vue tumoral, exclut le carotène et ses produits de dégradation comme agents responsables des hyperplasies médullaires. Le procédé utilisé pour la fabrication de ce concentré n'en élimine du reste pas d'autres fractions insaponifiables qui pourraient être à l'origine de son activité.

3°) VITAMINE A. — La vitamine A pure titrant 100.000 U. I. par ml en solution huileuse, reprise à 25 % et 50 % dans la lanoline anhydre, n'a provoqué aucune hyperplasie ; tout au plus avons-nous pu observer la disparition des grains d'amidon sur quelques millimètres, de part et d'autre des blessures, cinq mois après le début des expériences.

A 0,1 % dans l'huile d'olive, la vitamine A cristallisée ne modifie pas la cicatrisation. A la concentration de 1 % elle provoque des ulcérations et la nécrose des tiges.

C. — Tocophérol

L'huile de germe de blé, particulièrement riche en tocophérol, n'a pas exercé d'effets tumorigènes, mais a provoqué simplement des recloisonnements, isolant une partie du parenchyme médullaire imbibé d'huile, au voisinage des blessures.

Le tocophérol en solution huileuse très concentrée, de consistance siru-

peuse, est inactif, mais entraîne, comme l'huile de germe de blé, autour du parenchyme médullaire voisin de la blessure et imbibé, l'apparition d'un cambiforme constituant une nappe isolante dépourvue de lipides.

D. — Carbures

1°) SQUALÈNE. — Le squalène, hydrocarbure non saturé, découvert dans les huiles de foie de poissons, existe en quantités assez importantes dans l'huile d'olive (en moyenne 383 mmg pour 100 gr d'huile), ainsi que dans diverses huiles végétales.

Pur, il détermine d'importantes nécroses par dessiccation des tissus. Dilué dans son poids de lanoline, les nécroses sont alors suivies de cicatrifications. Dilué à 25 %, il perd en grande partie sa toxicité et la cicatrisation se produit normalement sous un épiderme et un parenchyme cortical partiellement nécrosés.

2°) KARITÈNE. — Le karitène, polyisoprène isolé de l'insaponifiable de beurre de Karité, aux concentrations de 5 % dans la lanoline anhydre et l'huile de foie de morue, de 1 % et 10 % dans l'huile d'olive, est demeuré inactif, ne provoquant que des ulcérations externes.

3°) MÉTHYLCHOLANTHRÈNE. — Le méthylcholanthrène en solution dans l'huile d'olive n'a provoqué aucune réaction.

CONCLUSIONS

L'essai des divers constituants des lipides actifs a montré que la fraction responsable des tumeurs médullaires et des hyperplasies corticales accompagne l'insaponifiable.

Cette notion est confirmée par l'étude des éléments qui entrent dans la composition des huiles et graisses expérimentées.

Le facteur actif est stable. Il conserve son efficacité fonctionnelle sur la moelle de *Pelargonium* pendant plusieurs mois, malgré l'oxydation de l'insaponifiable conservé en atmosphère normale à 3-4°.

Cependant, l'activité de l'insaponifiable brut ne peut être rapportée à aucune des fractions que nous avons eu la possibilité d'utiliser.

Seule une analyse poussée de l'insaponifiable, notamment par chromatographie, permettra de déterminer plus exactement la nature de la fraction active.

Il semble intéressant de retenir qu'il existe un certain parallélisme entre l'inactivité de certaines huiles et celle de la principale fraction entrant

dans la composition de leur insaponifiable : squalène pour les huiles de foie de poissons, tocophérol pour l'huile de germe de blé.

Mais la fraction active ne peut à elle seule provoquer la formation de réactions parenchymateuses : il faut qu'elle soit introduite dans les cellules durant la période où se déroulent des processus de cicatrisation, sur des plantes laissées à la lumière.

La réaction hyperplasique se produit de manière inconstante si le facteur actif est dissous dans une huile minérale qui ne pénètre pas dans les cellules, ou dans une huile organique de haute viscosité.

Les réactions parenchymateuses que nous avons décrites sont donc le résultat de facteurs complexes qui interfèrent :

- un élément étranger : lipide renfermant un insaponifiable actif ;
- plusieurs éléments endogènes :
 - hormones de blessures d'origine locale ou apicale (rôle de la lumière) ;
 - facteurs enzymatiques liés à la cicatrisation et à la métabolisation éventuelle des lipides qui disparaissent au cours du développement de l'hyperplasie.

Il convient enfin d'insister tout particulièrement sur le caractère spécifique des réactions observées qui sont le résultat d'effets essentiellement qualitatifs des lipides.

CHAPITRE 7

EFFETS NON SPECIFIQUES DES LIPIDES SUR LES TISSUS DE TIGES

A côté des effets spécifiques des lipides actifs sur les parenchymes médullaires et corticaux de *Pelargonium* et de Ricin, nous avons pu observer, au cours de nombreuses expériences, des effets variés de lipides divers qui se sont révélés actifs sur d'autres tissus de la tige.

Nous indiquerons brièvement les principaux résultats obtenus.

I. — EPIDERME

L'épiderme ne subit généralement pas de recloisonnements ; cependant, les lipides étrangers y pénètrent aisément.

L'huile de palmiste, l'huile de poissons entiers, la graisse humaine ont provoqué de manière inconstante des hyperplasies très limitées de l'épiderme à la suite d'injections dans les tiges de Ricin (Fig. 38).

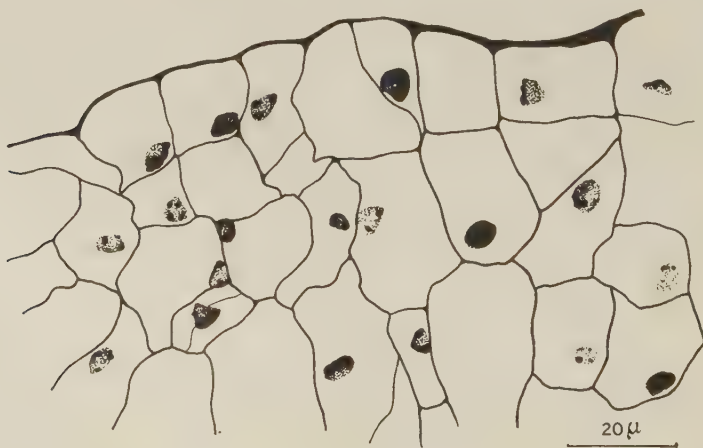


Fig. 38. — Hyperplasie de l'épiderme chez *Ricinus sanguineus* après injection de graisse mammaire. 30^e jour ; coupe longitudinale.

Fréquemment, l'épiderme subit les effets toxiques des huiles et des graisses d'origine étrangère : il desquame et fait place à un liège cicatriciel.

II. — COLLENCHYME

Le collenchyme n'est qu'exceptionnellement atteint par l'envahissement lipidique. Il se recloisonne chez le Ricin à la suite d'injection d'huiles de colza, de noix, de palmiste, de poissons entiers, de sardines et de foie de morue. Il s'hypertrophie sous l'effet de l'huile de colza (Pl. XIII, fig. 4), des huiles minérales et du squalène.

III. — PERICYCLE

Chez le *Pelargonium* et le Ricin, l'assise péricyclique réagit par quelques hyperplasies à certaines huiles végétales.

Les injections d'acides gras totaux d'huile d'arachide ont provoqué chez le Ricin la production de nombreuses racines d'origine péricyclique qui s'extériorisent à la surface des tiges.

IV. — LIBER

Le parenchyme libérien ne réagit ni chez le *Pelargonium*, ni chez le Ricin aux lipides les plus actifs. Nous n'avons jamais obtenu une réaction quelconque, hypertrophique ou hyperplasique, de ce parenchyme. Les lipides, même les plus émulsionnables (huile d'olive, huile d'amandes douces), ne pénètrent pas dans ce tissu qui constitue des îlots incolores sur les préparations traitées par le Noir Soudan (Pl. XV, fig. 1).

V. — CAMBIUM

Le cambium réagit de manière variable selon les espèces. Il convient de souligner son absence complète de réaction chez *Pelargonium zonale*, alors que ce tissu constitue, par son accroissement incessant et désordonné, la plus grande part des masses tumorales de crown-gall chez ce matériel.

Chez *Ricinus sanguineus*, par contre, l'injection de certaines huiles végétales (olive, pépins de citrouille, lin, tournesol) ou animales (sardines, foie de poissons, pieds de bœufs) a entraîné une hyperactivation du cambium dans certains secteurs de tiges, avec une différenciation anormale de tissu ligneux (Pl. XVII, fig. 1 et 2).

Ces effets de diverses huiles sur le cambium chez le Ricin rappellent certaines actions des hétéro-auxines et du 2-4 D. qui ont été signalées en particulier par LEROUX (1953) sur la Nielle de Blé.

L'absence de lignification de nombreux éléments vasculaires néoformés, signalée dans le tableau V, évoque par ailleurs les résultats de FOURCROY (1937) : de simples blessures portant sur des racines, entraînent, même à une certaine distance, un arrêt de la lignification, alors que les vaisseaux sont morphologiquement caractérisés.

VI. — PARENCHYME VASCULAIRE

L'injection, dans la tige de Ricin, d'une graisse mammaire fraîche, obtenue par compression, a provoqué une hyperplasie intense du parenchyme vasculaire (Fig. 39).

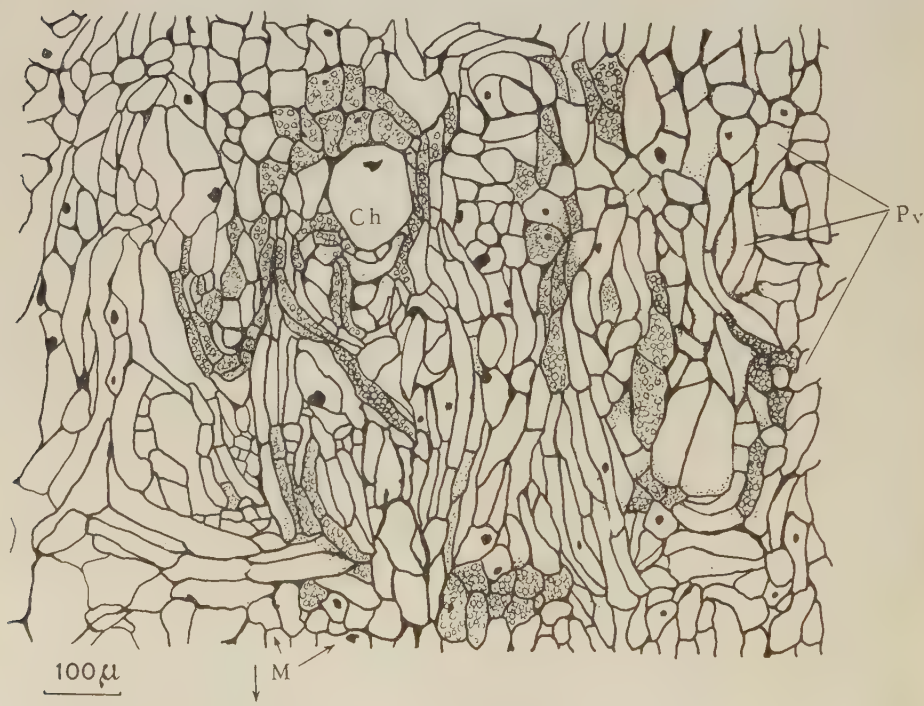


Fig. 39. — Hyperplasie du parenchyme vasculaire (Pv) chez *Ricinus sanguineus* après injection d'une graisse d'épithélioma mammaire fraîche obtenue par compression ; 60^e jour ; coupe longitudinale. Cette hyperplasie s'est produite en direction de la moelle (M) dont certaines cellules hypertrophiées (Ch) se trouvent enserrées dans le tissu néoformé. Certaines cellules vasculaires sont caractérisées simplement par leur taille très allongée ; d'autres sont chargées de lignine.

L'injection d'huiles de lin, de coton, d'olive, de pépins de citrouille, de palme, de palmiste, de pieds de bœufs et de moutons, a déterminé des hyperplasies plus régulières de ce parenchyme.

Chez *Pelargonium zonale*, des effets semblables ont été notés à la suite d'applications externes d'huiles de coton et de palmiste.

CONCLUSION :

Ces diverses réactions tissulaires ne correspondent plus, en raison de leur caractère inconstant, à des actions spécifiques des lipides. Nous pensons qu'elles doivent être rapportées aux effets des auxines presque toujours présentes en quantités très variables dans la plupart des huiles et graisses animales et végétales.

CHAPITRE 8

EFFETS DE LIPIDES ACTIFS ASSOCIES A DIVERS AGENTS

Parvenu à ce point de nos recherches, nous savions qu'un facteur figurant dans l'insaponifiable de certains lipides provoque sur les tiges de végétaux supérieurs d'importantes réactions parenchymateuses.

Il était utile d'étudier le comportement de ces hyperplasies bénignes soumises aux effets de régulateurs de croissance ou de l'agent du crown-gall, *Agrobacterium tumefaciens*.

Il était également nécessaire de vérifier les effets de tels agents sur des parenchymes normaux simplement imprégnés de lipides actifs.

Nous avons consacré à ces problèmes plusieurs séries expérimentales que nous rapporterons brièvement.

I. — EFFETS DE DIVERS AGENTS SUR LES HYPERPLASIES PARENCHYMATEUSES

Nous avons étudié l'action de deux hétéro-auxines sur les tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale* et les effets d'inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* dans ces tumeurs, ainsi que dans les hyperplasies corticales du Ricin.

A. — Action des hétéro-auxines sur les tumeurs médullaires de *Pelargonium*

L'acide indole butyrique et l'acide naphthalène acétique en pâtes lanolinées, à des concentrations variant de 0,5 % à 3 %, demeurent sans effets sur des néoformations médullaires, âgées de 85 jours, provoquées par des extraits lipidiques d'épithélioma mammaire.

Dans 20 % des cas environ, ces hétéro-auxines provoquent la néoformation de racines aux dépens du péricycle.

B. — Action d'*Agrobacterium tumefaciens*
sur les hyperplasies parenchymateuses

Il convient de distinguer les effets d'inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* dans les tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale*, des effets provoqués par de telles inoculations dans le parenchyme cortical hyperplasié de *Ricinus sanguineus*.

1°) Inoculations dans les tumeurs médullaires
de *Pelargonium*

Des inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* (souche tom. 42-4 de l'Institut Pasteur de Paris) ont été faites dans des tumeurs médullaires de deux mois provoquées par des graisses mammaire et abdominale humaines en pâtes lanolinées. Ces tumeurs ne renfermaient presque plus de lipides et l'imprégnation lipidique des tissus voisins, non recloisonnés, était faible.

Quand les tumeurs avaient provoqué l'éclatement des tissus externes, l'inoculation était faite directement dans la moelle hyperplasiée. En l'absence d'éclatement, le tracé d'inoculation a lésé plus ou moins les tissus externes bien qu'empruntant le trajet des blessures initiales.

Les résultats de ces inoculations ont été les suivants :

a) LES TUMEURS MÉDULLAIRES N'ONT PAS RÉAGI

On constate simplement la surcoloration de certaines parois cellulaires après le Feulgen et l'hématoxyline ferrique. Elle apparaît suivant des lignes qui semblent correspondre au trajet des bactéries à travers le tissu médullaire hyperplasié (Pl. XVI, fig. 2).

En dehors de la tumeur médullaire on remarque dans la moelle normale quelques recloisonnements concentriques autour de méats surcolorés. Ces formations, peu nombreuses, restent isolées.

b) DES TUMEURS D'ORIGINE BACTÉRIENNE SONT APPARUES

Ces tumeurs sont médullaires, cambiales, ou mixtes, comportant dans ce cas l'association de différents éléments tissulaires. Ces deux derniers types de réactions intéressent des tissus qui, généralement, sont indifférents aux effets des lipides. Elles ont l'aspect caractéristique du crown-gall et viennent se superposer à la tumeur médullaire d'origine lipidique sans aucune intrication tissulaire.

Les hyperplasies médullaires dues aux bactéries se superposent également aux tumeurs d'origine lipidique, s'y unissent parfois par des con-

nexions, mais ne s'y intègrent pas directement et demeurent séparées par une nappe de cellules normales non recloisonnées.

Quand la tumeur médullaire d'origine lipidique s'étend dans le sens axial de la tige de chaque côté de la blessure initiale, la tumeur bactérienne se développe en profondeur dans la région encore saine de la moelle.

Quand la tumeur d'origine lipidique ne s'est développée que d'un côté de la blessure initiale, la tumeur bactérienne se constitue fréquemment de l'autre côté, dans la moelle non encore recloisonnée.

2°) *Inoculations dans les hyperplasies corticales de Ricin*

Des inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* ont été faites 4, 11, 15 et 40 jours après des injections de graisses mammaire et abdominale humaines dans les canaux médullaires de Ricins cultivés en pleine terre, hauts de 1 m 50 à 1 m 80.

Que ces inoculations aient été faites dans la fente initiale d'injection des lipides, en n'importe quel point des entrenœuds bourrés de graisse, ou dans les verrucosités, elles n'ont jamais déterminé la formation de tumeur, ni même d'une réaction hyperplasique.

Même avec les inoculations faites au 4^e jour, on ne constate 10 semaines plus tard que des nécroses, sans processus réparateur, aboutissant à la formation d'une cavité dans l'entrenœud blessé (Pl. II, fig. 7).

Par contre, si les inoculations de bactéries sont faites dans des entrenœuds n'ayant subi aucune imprégnation de graisse, les tumeurs de crown-gall se développent normalement, comme chez les témoins qui avaient reçu des injections de lanoline anhydre ne pénétrant pas dans les tissus.

II. — EFFETS DE DIVERS AGENTS SUR LES PARENCHYMES IMPREGNES DE LIPIDES

A. — Action des régulateurs de croissance

Des tiges de *Pelargonium zonale* sont badigeonnées huit fois en quinze jours avec une huile d'arachide du commerce et une huile de maïs brute industrielle. Ces huiles pénètrent dans les tissus sans provoquer de recloisonnements cellulaires.

Des blessures sont alors faites dans les entrenœuds et les zones blessées sont badigeonnées avec des solutions à 1 % d'acide indole butyrique dans l'huile d'arachide et dans l'huile de maïs pour les *Pelargonium* imprégnés respectivement de ces huiles.

Aucune hyperplasie ne s'est produite ; les tiges blessées ont présenté très rapidement des nécroses importantes.

La même expérience faite sur des *Pélargoniums*, imprégnés d'huile de colza pendant six jours seulement avant les blessures, a mis en évidence l'action rhizogène normale de l'acide indole butyrique sur le péricycle.

Le 2-4-D appliqué en solutions huileuses à 0,1 % sur des tiges de *Pelargonium* imprégnées d'huile d'olive a provoqué d'importantes réactions, boursouffures des tiges, éclatement des pétioles sans badigeonnages directs, constitution de masses parenchymateuses tumorales autour des bourgeons axillaires dormants de la base des tiges.

B. — Action d'*Agrobacterium tumefaciens*

Nous avons fait des expériences sur des tiges de *Pelargonium* imprégnées de lipides et sur des tiges de Ricin qui ont subi simultanément les effets des lipides et des bactéries.

1°) Action sur des tiges de *Pelargonium* imprégnées de lipides

Toutes les inoculations faites dans des tiges de *Pelargonium* imprégnées préalablement de lipides sont demeurées négatives.

Ces imprégnations préalables ont été faites avec des huiles d'arachide, de maïs, de colza et d'olive.

Nous avons vérifié pour l'huile d'arachide et l'huile de maïs que la toxicité de ces huiles pour les bactéries ne pouvait être mise en cause : des cultures d'*Agrobacterium tumefaciens* en milieu gélosé peuvent demeurer plus de 80 jours sous une couche d'huile d'arachide sans cesser de se multiplier activement lors des repiquages sur gélose normale, ni perdre leur pouvoir pathogène. Sous huile de maïs brute, les cultures sont tuées entre le 12^e et le 15^e jour.

La non réactivité des tiges de *Pelargonium* ne saurait donc être attribuée à une action toxique directe des huiles sur les bactéries.

2°) Actions simultanées des bactéries et des lipides

Ces expériences ont été faites sur la tige de *Ricinus sanguineus*.

a) ACTION D'EMPLÂTRES SUR LA TIGE DE RICIN

Agrobacterium tumefaciens conserve sa virulence dans les pâtes de lanoline anhydre ou hydratée auxquelles on le mélange extemporanément.

Appliquées sur des tiges blessées de Ricin, ces pâtes entraînent la formation de tumeurs de crown-gall.

Des emplâtres de lanoline hydratée renfermant à poids égal de la graisse abdominale humaine et des colonies bactériennes, n'induisent aucune formation tumorale qui puisse être rattachée à l'action propre de ces dernières.

Si l'on ajoute à ces emplâtres de l'acide naphthalène acétique à 0,5 %, la tige réagit par la néoformation de racines aux dépens du péricycle.

b) INJECTIONS DE GRAISSES ENRICHIES PAR DES CULTURES BACTÉRIENNES

Nous avons mélangé extemporanément des cultures d'*Agrobacterium tumefaciens* âgées de 15 jours à de la graisse abdominale humaine. Cette graisse est alors injectée dans les cavités médullaires de Ricins cultivés en pleine terre, hauts de 1 m 50 environ.

La surface des tiges se couvre rapidement de verrucosités nombreuses auxquelles correspond une hyperplasie intense du parenchyme cortical.

Aucune tumeur bactérienne ne s'est produite ni au niveau des points d'injection (zones de blessure), ni en tout autre point des tiges au bout de trois mois.

Chez les témoins qui avaient reçu des injections d'eau de ville non stérile renfermant des cultures d'*Agrobacterium tumefaciens*, âgées également de 15 jours et mélangées extemporanément, des tumeurs caractéristiques sont apparues rapidement au niveau des points d'injection et de blessures pratiquées dans les tiges.

EN RESUME

Ni les régulateurs de croissance, ni la bactérie du crown-gall n'agissent sur les parenchymes de tiges déjà hyperplasiés sous l'effet des lipides actifs.

Agrobacterium tumefaciens n'a pas d'effet pathogène sur les tissus des tiges imprégnés de lipides, alors que les régulateurs de croissance conservent une certaine activité.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

DEUXIEME PARTIE

LA CIRCULATION ET LA MÉTABOLISATION DES LIPIDES DANS LES TIGES LEUR ABSORPTION PAR LES RACINES

Les résultats exposés jusqu'à présent concernent les réactions locales provoquées sur des secteurs de tiges par l'apport de lipides étrangers.

Il existe, en dehors de ces réactions localisées, des troubles de l'état général des végétaux après de tels traitements.

Le trouble le plus apparent et le plus fréquemment observé est l'arrêt de croissance de la tige qui se produit quel que soit le degré d' « activité » des lipides introduits. L'arrêt peut ne pas être complet : on observe alors des entrenœuds très courts et, chez le Ricin, des malformations des sommités caulinaires et des feuilles apicales.

Les bourgeons axillaires, malgré l'arrêt total de la croissance survenu dans de nombreux cas, ne présentent aucun développement.

De plus, localement, dans les zones réactionnelles des parenchymes, les lipides, abondants au début de l'expérience, sont devenus difficiles à mettre en évidence.

Ces constatations nous ont conduit à étudier la translocation des lipides dans les tiges et les phénomènes de métabolisation dont ils peuvent être l'objet, puis à vérifier si les trajets suivis dans les plantes par les lipides étrangers sont les mêmes lorsqu'ils sont introduits par la voie d'accès la plus naturelle : les racines.

Il était au surplus indispensable de vérifier si, loin des zones de blessures, et en l'absence certaine de toute microlésion, les lipides déterminaient encore des recloisonnements.

CHAPITRE PREMIER

LA CIRCULATION DES LIPIDES DANS LES TIGES

La circulation et la répartition des lipides endogènes dans les plantules a été étudiée surtout à l'aide de procédés quantitatifs, ne permettant pas de suivre leur localisation. Le passage des lipides de l'albumen dans la plantule a été signalé par HENRY (1957) chez *Cocos nucifera*.

Nous avons étudié la répartition de l'huile à la germination des graines de *Ricinus sanguineus* (1) et nous avons pu constater que le passage des lipides s'effectue d'abord de l'albumen vers les cotylédons, puis vers la plantule par les vaisseaux du pont cotylédonaire et les voies parenchymateuses annexes. Un courant lipidique se dessine ensuite autour du cylindre central de la tigelle et de la radicule. Le méristème gemmulaire se trouve envahi d'inclusions soudanophiles, tandis que le méristème radiculaire, rempli de lipides à l'état quiescent, en est dépourvu dans les radicules ayant atteint 0,5 cm. Les noyaux des cellules procambiales renferment des inclusions soudanophiles, sous forme généralement d'un ou deux globules satellites du nucléole. On peut également mettre en évidence dans ce dernier, pendant des temps très brefs, des granulations colorables par le Noir Soudan.

La circulation des lipides endogènes chez les plantes adultes ne paraît pas avoir été étudiée. Nous avons pu constater cependant la présence, dans les espaces intercellulaires des assises internes de l'écorce, de films soudanophiles à différents stades de la croissance chez *Ricinus sanguineus*, en particulier au niveau du collet. Cette observation n'établit pas la présence de courants lipidiques dans la plante normale, mais doit conduire à des recherches dans ce domaine. La preuve de l'existence de tels courants ne pourrait être apportée que par des procédés de coloration vitale ou de « marquage » des huiles de l'albumen au moment de la germination.

Quel que soit leur mode d'introduction dans la tige, les lipides subissent une double translocation, dans le sens horizontal et dans le sens vertical.

(1) Mémoire sous presse.

I. — TRANSLOCATION HORIZONTALE

La translocation horizontale des lipides dans la tige pleine de *Pelargonium zonale* a été mise en évidence par des badigeonnages localisés et l'application sur certains entrenœuds de manchons de coton imbibés d'huile.

Les huiles, et même les graisses, pénètrent à travers l'épiderme ou le liège, le parenchyme cortical et les tissus conducteurs, jusqu'au cœur de la moelle. Elles suivent principalement un trajet intercellulaire, mais s'introduisent au passage dans de nombreuses cellules parenchymateuses, sans provoquer de recloisonnements.

L'étude de la translocation horizontale des lipides chez *Ricinus sanguineus* a été faite en particulier sur une plante qui avait reçu à l'âge de 6 mois des injections de graisse d'épithélioma mammaire dans sept entrenœuds où se trouvaient répartis 26 ml de graisse pure.

Dès le 9^e jour, des verrucosités apparaissaient sur six de ces entrenœuds. Au 17^e jour, ce Ricin était couvert de verrucosités blanchâtres remontant vers l'apex ; sa croissance était arrêtée.

Les examens pratiqués aux différents étages de la plante ont montré une répartition des lipides identique à celle observée à des stades plus âgés :

— Dans la moelle, la répartition intercellulaire des lipides est très supérieure à leur répartition intracellulaire (Pl. XV, fig. 3) ;

— Dans le bois primaire où la répartition est irrégulière, les lipides se localisent dans les parois des vaisseaux et dans les cellules ligneuses qui les entourent (Pl. XIV, fig. 2 et 3). De nombreuses cellules, certains vaisseaux également sont entièrement obstrués par un globule soudanophile (Pl. XV, fig. 2) ;

— Les punctuations du xylème secondaire sont irrégulièrement garnies de lipides (Pl. XIV, fig. 4) ;

— Le cambium, aux étages où il est devenu fonctionnel, renferme peu de lipides, sauf dans les espaces intercellulaires des rayons médullaires (Pl. XV, fig. 1).

— On ne remarque pas de lipides dans les îlots du liber primaire, et l'on en voit exceptionnellement dans quelques cellules parenchymateuses du liber secondaire (Pl. XV, fig. 1).

— Des gouttelettes lipidiques isolées ornent les parois des fibres péri-cycliques.

— Les lipides ont envahi les espaces intercellulaires du parenchyme cortical où se déroule le processus d'hyperplasie. Ils peuvent être mis en évidence dans le cytoplasme et les noyaux de nombreuses cellules de ce parenchyme.

— On ne remarque que peu ou pas de lipides dans le collenchyme et l'épiderme, en dehors des régions proches des verrucosités.

— Les verrucosités sont remplies de lipides inter et intracellulaires qui exsudent.

Dans l'ensemble, seul le liber paraît opposer une certaine barrière au trajet suivi par les lipides de la cavité médullaire vers la surface de la tige. Il s'agit là d'un fait d'observation constant aussi bien pour la tige de *Pelargonium* que pour celle de Ricin. Ce phénomène est parfaitement visible soit sur les coupes transversales des entrenœuds, soit, mieux encore, sur les coupes transversales de nœuds où les faisceaux libéro-ligneux se trouvent entourés de lipides qui ne franchissent pas les assises libériennes périphériques.

II. — TRANSLOCATION VERTICALE

Si l'on colore une huile, préalablement à son introduction dans la tige, en la saturant de Noir Soudan ou de carotène, il est aisé de suivre ultérieurement son trajet.

On constate que cette huile s'élève de la zone où elle a été placée, vers les sommités caulinaires, et descend vers les nœuds inférieurs.

La circulation de l'huile n'est donc pas polarisée, mais le trajet ascendant est plus important que le trajet descendant.

A. — Trajet ascendant

Sept à huit jours après l'introduction, dans le second entrenœud sous-apical d'un *Pelargonium*, d'une graisse mammaire saturée de Noir Soudan, les sommités caulinaires et la base de certains pétioles sont teintés de bleu (Pl. XIX, fig. 1 et 2).

Après quinze jours, les feuilles apicales portent des taches bleues à la partie centrale du limbe, à l'exception des nervures qui conservent leur coloration vert pâle. Elles sont grasses au toucher.

L'examen des préparations montées sans coloration montre une ascension des lipides essentiellement par les voies parenchymateuses (assises corticales et médullaires périphériques au cylindre central) et leur localisation dans les espaces intercellulaires.

Près de la zone d'introduction, les lipides suivent les espaces intercellulaires de l'ensemble du parenchyme cortical, avec envahissement du nœud supérieur. Au-dessus, le courant se concentre au long des assises corticales internes et des assises périphériques de la moelle, pour s'étaler au niveau des nœuds.

Près de l'apex, les lipides imprègnent tout le parenchyme médullaire, le méristème apical et les ébauches qui l'entourent.

Si l'on fait subir à de telles préparations une coloration par le Noir Soudan, des lipides se révèlent dans le cytoplasme et même les noyaux de cellules qui, sur les préparations précédentes, apparaissaient sans contenu coloré.

La coloration préalable des lipides ne permet donc de suivre qu'imparfaitement leur trajet, puisqu'ils peuvent pénétrer dans les cellules sans entraîner avec eux les molécules de colorant.

Chez le Ricin, à la suite d'injections dans la cavité médullaire, l'ascension des lipides vers les sommités caulinaires s'effectue aussi bien par les parenchymes que par les vaisseaux ; ceux-ci sont souvent obstrués par des masses lipidiques volumineuses ou présentent, dans leurs ponctuations et les espaces cellulotiques qui séparent les ornements lignifiés, des gouttelettes grasses, plus ou moins fines.

Les ébauches foliaires envahies de lipides subissent des déformations (Pl. XVIII). Les feuilles apicales sont ornées de dentelures et d'échancrures inhabituelles ; les nervures, au lieu d'être rectilignes, ont un aspect en zigzag (Pl. XIX, fig. 6). La croissance de la plante est arrêtée (Pl. XIX, fig. 5).

Dans certains cas cependant, la plante échappe à l'envahissement lipidique, sa rapidité de croissance étant supérieure à la vitesse ascensionnelle des lipides, et elle poursuit son développement (Pl. XIX, fig. 4).

B. — Trajet descendant

Si l'on fait pénétrer par pulvérisation ou badigeonnage quelques gouttes d'huile dans le limbe des feuilles apicales d'un *Pelargonium*, on observe une inhibition persistante de la croissance ; les entrenœuds cessent de s'allonger ; les feuilles jaunissent rapidement et tombent.

Les lipides sont abondamment répartis dans tous les tissus de la feuille. Ils suivent un trajet descendant vers les pétioles, rejoignent la tige en suivant essentiellement les espaces intercellulaires des assises internes de l'écorce, et, reprenant fréquemment une voie ascendante, s'accumulent sur les nœuds supérieurs et l'apex.

Nous avons suivi le trajet de lipides préalablement colorés par le Noir Soudan : ils descendent vers les entrenœuds et les nœuds inférieurs en suivant les assises périphériques de la moelle et le parenchyme cortical au long de l'épiderme.

A mi-hauteur de la tige, le trajet devient simplement épidermique, tout en se poursuivant par les assises externes de la moelle.

Les lipides s'accumulent sur les méristèmes des bourgeons axillaires, qui apparaissent fortement colorés.

Les trajets descendants sont moins importants chez le Ricin ; les lipides

circulent cependant aussi vers les nœuds inférieurs par les espaces inter-cellulaires des assises internes de l'écorce et des assises pérимédullaires.

Aucun recloisonnement cellulaire provoqué par les lipides n'a été observé au cours de l'examen de très nombreuses préparations.

EN RESUME

Les lipides étrangers, introduits dans les tiges de *Pelargonium* et de Ricin, subissent une double translocation horizontale et verticale.

Ils suivent principalement des voies parenchymateuses, se fixant au passage sur le cytoplasme et le noyau de certaines cellules, sans provoquer — en dehors de toute blessure — de recloisonnements.

Ils entraînent l'arrêt de la croissance des plantes, des malformations des sommités caulinaires, l'inhibition du développement des bourgeons axillaires et de l'allongement des entrenœuds, soit par leur action directe sur les tissus, soit, plus vraisemblablement, par un trouble du métabolisme hormonal.

CHAPITRE 2

LA METABOLISATION DES LIPIDES INTRODUITS DANS LES TIGES

Lorsque le développement des tumeurs médullaires est achevé, chez le *Pelargonium* et le Ricin, il devient difficile de mettre en évidence des lipides, même dans les espaces intercellulaires du parenchyme hyperplasié.

Seuls restent colorables par le Noir Soudan quelques îlots épars constitués par quelques cellules et méats.

Dans les hyperplasies corticales du Ricin, on ne remarque pas ce phénomène en raison de l'apport constant de lipides provenant de la cavité médullaire où ils restent en réserve.

Trois hypothèses permettent d'expliquer la quasi-disparition des lipides dans le cas des tumeurs médullaires :

- I. — Les lipides se sont combinés à des éléments protéiques (cénapses).
- II. — Ils ont été métabolisés par le végétal.
- III. — Ils ont été dilués au cours des divisions successives.

I. — COMBINAISON DES LIPIDES AUX MOLECULES PROTEIQUES

Notre étude a porté sur des coupes pratiquées dans des tumeurs médullaires âgées de 50 à 60 jours et renfermant peu de lipides colorables par le Noir Soudan.

Le démasquage des lipides est obtenu en plongeant les préparations pendant 24 ou 48 heures dans des bains de Lugol fort, après fixation au liquide de Helly.

L'examen de ces préparations montre que dans le parenchyme hyperplasié il existe encore des lipides colorables par le Noir Soudan dans le cytoplasme et les noyaux, après rupture des complexes lipoprotéiques. Cette coloration ne révèle sur les mêmes préparations, pour les cellules n'ayant jamais subi d'envahissement lipidique, que très peu d'éléments soudanophiles.

Une partie des lipides intracellulaires du parenchyme hyperplasié s'est donc combinée aux molécules protéiques pour former des complexes lipoprotéiques.

II. — METABOLISATION DES LIPIDES

La combinaison des lipides à certains éléments moléculaires du cytoplasme et des noyaux ne semble pas pouvoir expliquer, à elle seule, les faibles quantités colorables dans les tissus hyperplasiés.

Nous avons fait, avec M. PAQUOT, une étude biochimique des lipides introduits dans les tiges de *Pelargonium* et de Ricin.

A. — Tumeurs médullaires de *Pelargonium*

Trente *Pelargoniums* ont reçu sur 250 blessures une goutte de graisse mammaire humaine, sans renouvellement ultérieur. Après trente jours, les tiges sont ouvertes, débitées, et leurs fragments sont rangés en trois catégories : tumeurs médullaires, réactions cicatricielles, régions indemnes (dans lesquelles figurent les sommités caulinaires).

Les résultats des extractions par l'éther de pétrole, au Soxhlet, sur les tissus secs, et de l'analyse chimique par chromatographie sur colonne en phase vapeur, sont groupés dans le tableau VII.

TABLEAU VII

ORIGINE DU PRODUIT	Poids frais	Poids sec	Poids de l'extrait éthéro- soluble	% extrait Poids sec	Indice acide	ANALYSE CHIMIQUE % acides libres	Principaux acides gras
Graisse introduite	250 gouttes = 5,60 gr				23	11 %	S. C14, 16 et 18 N.S. C18
Tiges témoins non traitées	170 gr	18,59 gr	0,034 gr	0,01 %	25	12 %	S. C16 et C18
Tiges traitées zones non réactives	333 gr	35,64 gr	0,536 gr	0,15 %	15	7,5 %	S. C14, 16 et 18 N.S. C18
Tiges traitées zones cicatricielles	93 gr	11,18 gr	0,452 gr	0,38 %	26	13 %	S. C14, 16 et 18 N.S. C18
Tiges traitées tumeurs médullaires	100 gr	11,1 gr	0,509 gr	0,45 %	26	13 %	S. C14, 16 et 18 N.S. C18

Comparaison pondérale et biochimique des extraits éthéro-solubles obtenus à partir des différentes régions des tiges traitées.

Ce tableau montre en premier lieu qu'en totalisant les différentes fractions extraites, on est loin de retrouver la quantité initiale de graisse introduite dans les plantes. En trente jours, quatre grammes de graisse ont disparu.

Par ailleurs, le pourcentage de graisse extraite par rapport aux poids secs des tissus, minime pour les tissus normaux de *Pelargonium*, augmente progressivement des régions non traitées aux zones cicatricielles et approche de 0,5 % pour les tumeurs médullaires.

Les tumeurs contiennent donc encore à ce stade des quantités non négligeables de corps gras.

Ces corps gras ont une constitution identique à celle de la graisse d'origine avec un taux d'acides libres légèrement augmenté.

Aucun stockage d'acides gras ne paraît donc avoir lieu dans les tissus hyperplasiés et la diminution des quantités de graisses introduites dans le parenchyme médullaire, au cours du processus d'hyperplasie, ne pourrait s'expliquer que par la métabolisation immédiate des acides gras provenant de l'hydrolyse des triglycérides qui ne peuvent être assimilés directement par la plante.

La graisse extraite des fragments situés en dehors des entrenœuds blessés renferme moins d'acides gras libres. Ceux-ci ont pu pénétrer dans les cellules et s'y trouver métabolisés au cours de la translocation des lipides, sans entraîner, en l'absence de blessure, de manifestation pathologique.

La composition des corps gras extraits des tiges normales de *Pelargonium*, en quantités infimes, est très différente de celle des corps gras provenant des tiges traitées ; on y trouve essentiellement des esters d'acides palmitique et palmitoléique.

Il conviendra de reprendre cette étude avec des techniques de dosage microchimique et en procédant à des extractions différentielles au cours des premiers stades de la formation des tumeurs.

B. — Hyperplasies corticales du Ricin

Nous avons déjà rapporté, avec M. PAQUOT (1958), les résultats d'une étude concernant la métabolisation d'une huile d'arachide active ayant subi chez *Ricinus sanguineus*, après injection de quantités importantes dans les canaux médullaires, les phénomènes de translocation horizontale et verticale.

Nous avons été amenés à conclure cette étude en indiquant :

- 1) que l'huile recueillie à la surface des verrucosités s'est fortement enrichie en insaponifiables ;
- 2) que l'insaponifiable des huiles extraites des tiges et des sommités caulinaires est également très augmenté ;
- 3) que ces insaponifiables ne paraissent pas être exactement de la même composition : celui des huiles de tiges et des sommités caulinaires est très riche en pigments chlorophylliens, contrairement à celui des huiles des verrucosités ;
- 4) que l'augmentation des indices d'hydroxyle et d'acide de ces mêmes huiles est en faveur d'une hydrolyse partielle de celles-ci au cours de leur transit dans la plante.

L'analyse chimique ne permettait pas d'établir la présence d'acides

gras libres en quantités anormales dans les diverses fractions recueillies, mais seulement l'existence d'une hydrolyse partielle des lipides au cours de leur translocation dans le végétal et leur surcharge en substances insaponifiables.

L'analyse pondérale, de son côté, avait montré, comme pour les tumeurs médullaires de *Pelargonium*, la disparition d'une importante quantité d'huile.

Les résultats obtenus jusqu'à présent sont trop fragmentaires pour nous permettre de conclure formellement à une métabolisation des lipides par les plantes au cours du développement des hyperplasies parenchymateuses. Les expériences que nous avons faites devront être complétées par des essais avec des acides gras et des graisses marqués, par la chromatographie des fractions obtenues et par la recherche *in situ* des lipases.

III. — DILUTION DES LIPIDES

Les expériences faites précédemment nous ont montré que les tissus hyperplasiés renferment proportionnellement plus de lipides que les zones non réactives.

Or, dans les zones non réactives, les lipides sont parfaitement colorables par le Noir Soudan, tandis qu'ils ne le sont plus dans les parenchymes hyperplasiés.

La dilution que subissent les lipides au cours des mitoses est considérable. Quinze mitoses successives ramènent le stock lipidique d'une cellule à $1/32.000^e$ de ce qu'il était initialement. Les gouttelettes lipidiques, devenues sub-microscopiques, ne peuvent plus être mises en évidence par les procédés habituels de coloration ; seule l'extraction chimique permet de constater leur existence.

EN CONCLUSION

Les lipides cessent d'être colorables par le Noir Soudan dans les tissus hyperplasiés.

Trois hypothèses peuvent être envisagées : la formation de cénapses lipoprotéiques, la métabolisation des lipides, leur dilution au cours des mitoses.

En l'état actuel de nos recherches, chacune de ces trois hypothèses peut être admise ; les deux dernières trouvent cependant dans les faits observés les bases les plus certaines.

CHAPITRE 3

L'ABSORPTION DES LIPIDES PAR LES RACINES

Il est pratiquement impossible de réaliser sur les tiges des expériences sans risquer de provoquer des lésions de poils épidermiques, des micro-lésions, malgré toutes les précautions prises.

Nous avons alors pensé à l'introduction de lipides dans les plantes par les racines, dans le but de vérifier les trajets suivis par ces agents et leurs effets éventuels sur les parenchymes.

Après quelques essais avec des lipides purs, nous avons jugé préférable d'apporter aux racines des émulsions fines, suivant les techniques déjà indiquées, et d'assurer ainsi une nutrition presque normale aux plantules.

Nos expériences ont porté sur les racines de *Ricinus sanguineus*, *Lupinus albus*, *Pisum sativum* et *Allium cepa*.

Nous décrirons tout d'abord les expériences et nous schématiserons ensuite les résultats obtenus.

I. — ABSORPTION DES LIPIDES — EXPERIMENTATION

A. — *Ricinus sanguineus*

Des plantules de Ricin, âgées de 5 à 10 jours, sont placées sur des émulsions d'huile de coton à 0,1 %.

Les assises externes du parenchyme cortical sont rapidement envahies et l'on remarque des inclusions lipidiques dans les poils absorbants ; chez les plantules témoins on note seulement l'existence de courants lipidiques endogènes, près du cylindre central, ainsi que nous l'avons déjà signalé (1).

Les lipides, en fines gouttelettes, se fixent sur les parois externes des poils absorbants, pénètrent à l'intérieur des cellules et s'accumulent à leur base. Ils passent alors soit dans les espaces intercellulaires, soit directement dans les cellules voisines de l'écorce au travers des membranes.

(1) Cf. *supra*, p. 281.

Nous avons voulu vérifier si des plantules, semées dans le sol et se trouvant dans des conditions normales de croissance, étaient également susceptibles d'absorber des lipides émulsionnés.

Des Ricins, âgés de 11 jours (après germination sur buvard humide), sont divisés en trois lots :

- le premier est planté dans une terre végétale normale ;
- le second dans la même terre préalablement séchée et privée de lipides par brassage dans l'éther de pétrole ;
- le troisième dans la même terre privée de lipides, mais enrichie ensuite par un arrosage de 500 ml d'eau renfermant 5 ml d'huile d'olive en émulsion.

Chaque lot de terre pesait environ 500 gr.

Des fixations au formocalcium de BAKER ont été faites successivement après 7, 35 et 60 jours.

RÉSULTATS :

— au 7^e jour

Terre sans lipides : Des lipides intercellulaires forment des colonnes continues le long des assises internes de l'écorce. On ne voit de lipides ni dans les assises externes, ni à la surface des racines. Il y a eu simplement translocation de lipides endogènes, des cotylédons vers les racines.

Terre normale : aspect identique.

Terre enrichie en lipides : En plus des lipides endogènes des assises internes de l'écorce, on remarque de nombreux globules lipidiques dans la couche subéreuse et le parenchyme cortical avec pénétration intracellulaire.

— au 35^e jour

Terre sans lipides : On trouve des lipides en très faibles quantités dans les espaces intercellulaires des parenchymes cortical et médullaire, surtout près de l'anneau libéro-ligneux.

Terre normale : même distribution.

Terre enrichie en lipides : Des lipides inter et intracellulaires sont mis en évidence dans l'écorce et la moelle des racines. Il n'y a plus de lipides visibles dans la couche subéreuse, mais on en trouve abondamment entre les cellules de l'endoderme et du péricycle. Les lipides montent vers l'hypocotyle par les vaisseaux annelés et spiralés, souvent accompagnés de bactéries soudanophiles. On observe aussi dans l'hypocotyle des globules colorables par le Noir Soudan dans les méats du parenchyme cortical et dans la cuticule.

— au 60^e jour

Terre sans lipides : On note la présence de lipides en faibles quantités dans les espaces intercellulaires du péricycle et de l'endoderme, ainsi que dans certains méats du parenchyme médullaire qui conservent des dépôts soudanophiles aux points de jonction des membranes.

Terre normale : aspect semblable.

Terre enrichie en lipides : Les lipides sont répartis en abondance dans les membranes des cellules ligneuses de la racine, du collet et de l'hypocotyle.

D'autres expériences, par adjonction d'huile d'arachide pure dans le sol, ont abouti à des constatations semblables quant à la pénétration des lipides dans les racines.

Nous n'avons observé aucun recloisonnement provoqué par la présence de ces lipides dans les cellules.

Les plantules de Ricin absorbent donc les lipides en émulsion dans le sol et ceux-ci viennent se joindre aux courants huileux d'origine interne qui sont mis en évidence chez les témoins.

B. — *Lupinus albus*

Nous avons étudié l'absorption, par les racines de *Lupinus albus*, de lipides purs et de lipides émulsionnés, dans le but de vérifier l'activité éventuelle des lipides actifs sur les parenchymes, ainsi que, plus généralement, les phénomènes de pénétration des lipides dans les racines et leurs effets sur la croissance des plantules.

1°) *Lipides purs*

Les racicules de plantules âgées de 48 heures sont plongées dans des tubes contenant de la graisse abdominale humaine, fondue à la température du Laboratoire.

Après 24 heures, la racicule devient translucide ; la croissance s'arrête. La jeune plantule est littéralement imprégnée de graisse.

L'examen des préparations montre, dans la racicule, d'importantes quantités de lipides répartis dans les espaces intercellulaires et dans le cytoplasme, autour des vacuoles des cellules parenchymateuses. Les noyaux sont difficilement visibles en raison de l'abondance des inclusions cytoplasmiques, de l'intensité de la coloration par le Noir Soudan et de leur accollement aux parois cellulaires. Cependant, dans les noyaux en prophase du périlème, les chromosomes sont devenus nettement soudanophiles.

Après fixation par le liquide de Helly, on constate une rétraction centrale du cytoplasme dans les cellules de la coiffe, du dermatogène et du périlème, qui semble correspondre, ainsi que GARRIGUES (1951) l'a déjà démontré, à une déshydratation des tissus. Les noyaux ont un aspect profondément altéré, avec diminution de volume, modifications de forme et fréquentes images pycnotiques.

L'accumulation des lipides semble plus abondante encore dans les cellules de la tigelle et de la gemmule, dont la croissance est à peine ébauchée.

Les plantules, remises sur eau après 24 h de ce traitement, ne peuvent se développer et pourrissent.

Ces résultats concordent avec ceux énoncés par GARRIGUES (1951) pour la pénétration, dans les racines de Pois, de trioléine et d'huile de vaseline. Ainsi que l'avait tenté cet auteur, nous avons voulu permettre la survie des plantules en ne laissant dans l'huile qu'une zone déterminée de la racine : les résultats ont été identiques ; la graisse pénètre et détermine une pourriture.

Cependant, si la région méristématique, seule, plonge dans le milieu lipidique, le reste de la racine se trouvant dans un milieu aqueux, le résultat est différent : il n'y a pratiquement pas d'ascension des graisses dans les tissus de la plantule. Seule, la zone terminale de la racine pourrit, pendant que des radicules se développent dans l'eau.

2°) *Lipides émulsionnés*

Les lipides purs pénètrent dans les cellules, mais exercent rapidement une action toxique. Il convient donc de fournir aux plantules à la fois le milieu aqueux indispensable et les lipides dont on désire étudier la pénétration et les effets.

Seules, les émulsions faites à l'aide d'un mixer nous ont permis de réaliser une expérimentation correcte :

Les émulsions, très fines, sont stables, et assurent un bon contact avec des particules huileuses sur toute la longueur de la racine.

Nos expériences ont porté sur des émulsions de lipides qui s'étaient révélés les uns actifs, les autres inactifs sur les tiges de *Pelargonium* et de Ricin :

- graisses humaines (abdominale et d'épithéliomas mammaires) ;
- huile de coton ;
- huile de colza ;
- huile de ricin.

Pour chaque série d'expérience, des témoins ont été laissés sur de l'eau de ville identique à l'eau servant aux émulsions. Ces dernières sont renou-

velées tous les deux jours, ou quotidiennement, si elles sont souillées par des Bactéries ou des Champignons.

Les plantules, âgées de 5-6 jours, avaient une longueur moyenne initiale de 7 à 9 cm après germination sur buvard humide.

a) ABSORPTION DES GRAISSES HUMAINES EN ÉMULSION DANS L'EAU

La graisse abdominale, dont nous nous étions servi pour étudier l'absorption des lipides purs, a été émulsionnée dans des conditions standard et aux concentrations de 0,002 %, 0,01 %, 0,02 % et 0,1 %.

— Concentration de 0,002 %

Après 48 h on constate une pénétration des lipides, surtout au tiers inférieur de la racine, mais au-dessus de la région méristématique. Au 7^e jour, l'absorption est devenue plus importante dans la région subérifiée, notamment près des points d'émergence des radicules. On trouve des lipides dans la cuticule et les vaisseaux du bois jusqu'à 6-7 cm au-dessus du collet.

— Concentration de 0,01 %

Au bout de 24 h, les lipides apparaissent dans les espaces intercellulaires de l'écorce, à la base du collet. Après 48 h, on en observe dans toute la racine, à l'exception des zones méristématiques, ainsi que dans l'hypocotyle, jusqu'à environ 8 cm au-dessus du collet, dans les vaisseaux et sur la cuticule.

— Concentration de 0,02 %

24 h après le début de l'expérience, on constate déjà une forte absorption par la région pilifère et la région subéreuse. Au 3^e jour, on trouve des lipides à la périphérie de l'écorce jusqu'à mi-hauteur de l'hypocotyle. Au 4^e jour, l'ascension des lipides par les assises les plus externes et les plus internes du parenchyme cortical leur fait atteindre les sommités caulinaires.

On remarque des globules lipidiques dans les vaisseaux du bois, jusqu'à proximité de l'apex, mais l'ascension des lipides varie fortement d'une plantule à l'autre.

L'examen des préparations, aux 8^e et 10^e jours, ne montre pas de modifications notables. Les mitoses sont régulières, le chondriome a un aspect normal. On note seulement une distension des espaces intercellulaires dans les régions de l'écorce où l'envahissement lipidique a été le plus important.

Les colorations au Noir Soudan montrent une pénétration intracellulaire et intranucléaire des lipides, principalement dans les cellules de l'endoderme et du péricycle.

Des expériences ont été faites à la lumière et à l'obscurité ; aucune différence appréciable dans la pénétration et la répartition des lipides n'a été observée.

— *Concentration de 0,1 %*

La pénétration des lipides, aussi rapide que précédemment, est devenue plus intense après 48 h.

Après quelques jours, les globules lipidiques parviennent jusqu'aux feuilles par les vaisseaux et par un trajet cuticulaire tout au long de l'épiderme.

Laissées sur de telles émulsions, les plantules se développent moins bien que dans les expériences précédentes, et peu par rapport aux témoins. Elles finissent, après 15-20 jours, par pourrir.

Des plantules de 6 jours, placées sur une émulsion de graisse d'épithélioma mammaire à 0,1 %, renouvelée quotidiennement, furent laissées 13 jours au contact de celle-ci. Elles furent ensuite immergées jusqu'au collet dans l'eau de ville et mesurées au bout de 17 jours.

On note une nette diminution de la croissance des racines par rapport aux témoins, l'inhibition des racines secondaires, un ralentissement de la croissance des hypocotyles, une diminution du nombre des feuilles portées par des pétioles à peine mesurables et un port généralement oblique ou vertical des cotylédons, parfois encore accolés, alors que chez les témoins ils sont largement étalés (Fig. 40).

Les graisses humaines n'ont entraîné aucun processus de recloisonnement ou d'hyperplasie.

b) ABSORPTION D'HUILE DE COTON EN ÉMULSION DANS L'EAU

Des Lupins, germés depuis 6 jours, ont été placés sur des émulsions d'huile de coton dans l'eau à des concentrations variant de 0,1 à 3 %.

L'huile de coton pénètre mieux dans les tissus de la plante que la graisse humaine ; elle y est plus rapidement répartie, d'abord dans les espaces intercellulaires qu'elle obstrue entièrement (Pl. XX, fig. 1), puis dans le cytoplasme et les noyaux. Dans l'hypocotyle, comme pour les graisses humaines, l'ascension s'effectue au long des assises les plus internes et les plus externes de l'écorce (Pl. XX, fig. 2).

Au 5^e jour, l'huile, à la concentration de 0,3 %, a déjà atteint les sommités caulinaires, pénétrant même à l'intérieur des poils épidermiques des feuilles.

Aucun recloisonnement cellulaire, provoqué par l'huile, n'a été observé.

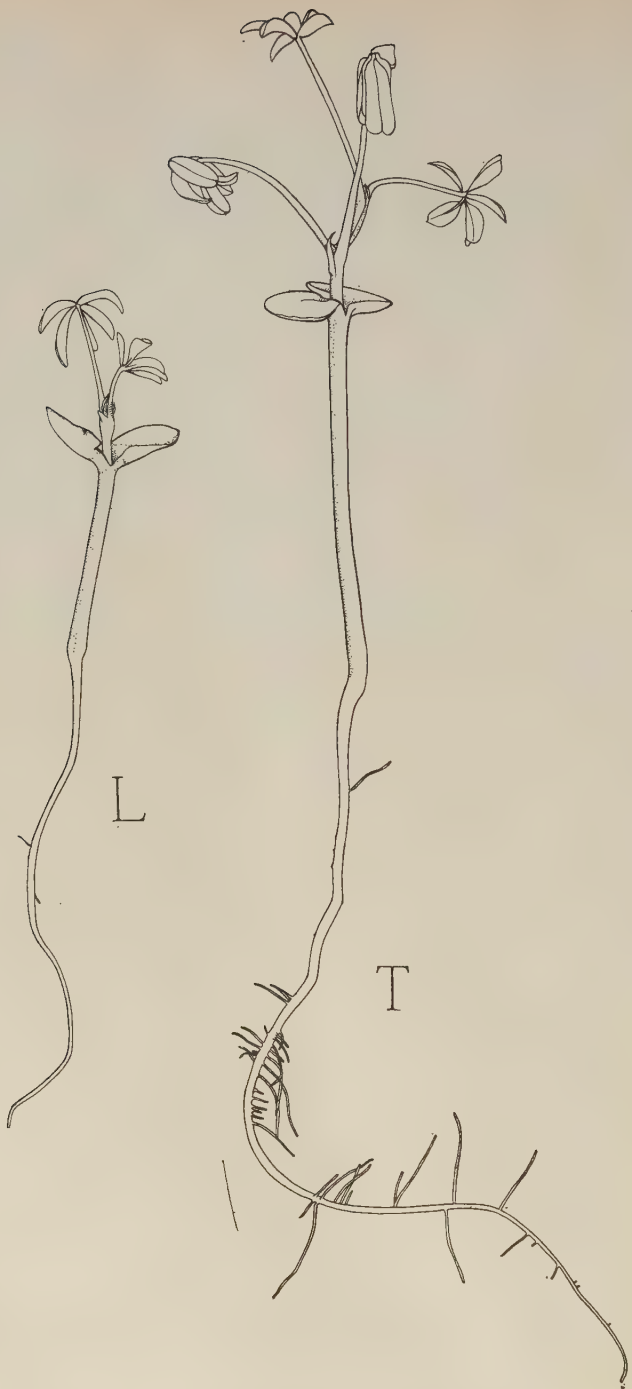


Fig. 40. — Lupins âgés de 36 jours. Le lupin témoin (T) a été placé directement sur de l'eau de ville après sa germination. Le lupin mis en expérience (L) a été placé au 6^e jour dans une émulsion renfermant 0,1 % de graisse d'épithélioma mammaire où il demeure en traitement pendant 13 jours avec renouvellement quotidien de l'émulsion. Ce lupin est à nouveau placé dans l'eau de ville au 19^e jour et y demeure jusqu'au 36^e jour. On remarque : la diminution globale de taille portant à la fois sur la racine, l'hypocotyle et les pétioles de feuilles, l'absence presque complète de racines secondaires, le port oblique des cotylédons et la diminution du nombre des feuilles par rapport au témoin.

c) ABSORPTION D'HUILE DE COLZA EN ÉMULSION DANS L'EAU

Des Lupins âgés de 8 jours sont placés dans une émulsion d'huile de colza à 0,025 % dans l'eau de ville.

Après 14 jours, onze Lupins survivants sur vingt pèsent 25 gr (poids frais), alors que douze Lupins témoins pèsent 42 gr (poids frais).

L'extraction à froid par l'éther de pétrole, suivie de distillation et d'évaporation, laisse un résidu sirupeux de 0,3 gr (1,2 % du poids frais) pour les Lupins ayant séjourné sur l'émulsion, et de 0,17 gr (0,4 % du poids frais) pour les Lupins placés dans l'eau.

Cette différence importante, due à l'absorption de lipides, est en rap-

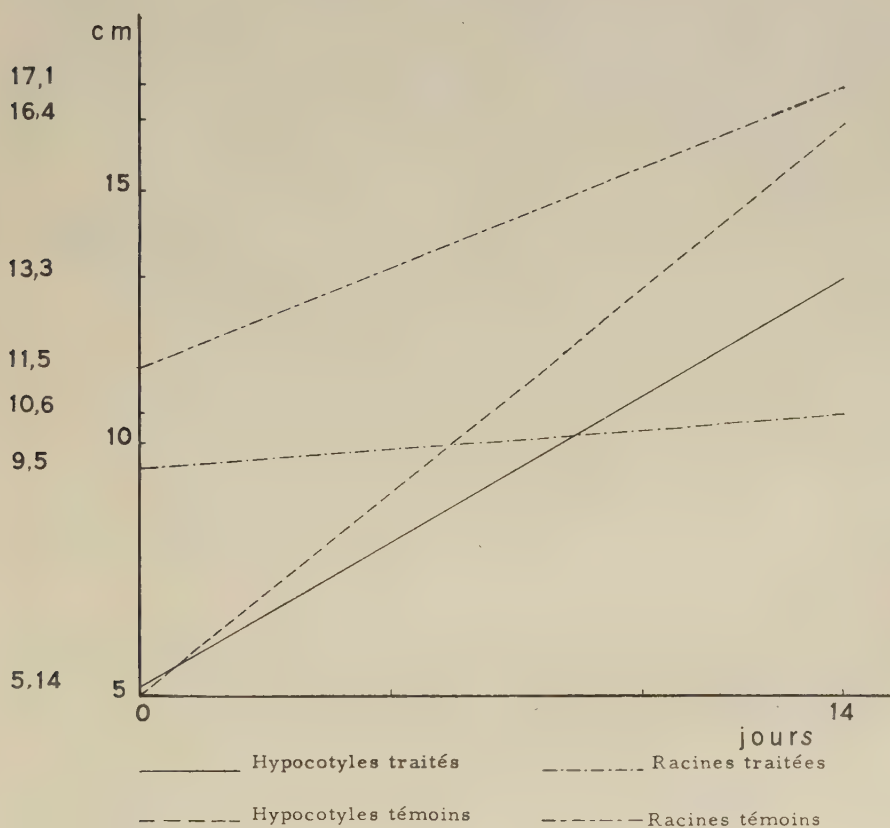


Fig. 41. — Moyennes d'allongement des racines et des hypocotyles chez des Lupins placés sur eau et sur des émulsions d'huile de colza à 0,1 % dans l'eau, au bout de quatorze jours. L'inhibition est beaucoup plus sensible pour les racines que pour les hypocotyles.

port avec des différences de croissance : inhibition de la croissance des racines et réduction de taille des hypocotyles chez les Lupins traités, par rapport aux témoins. Nous avons fait figurer ces résultats sur la courbe de croissance de la Fig. 41.

L'huile de colza n'a provoqué aucun recloisonnement cellulaire.

d) ABSORPTION D'HUILE DE RICIN EN ÉMULSION DANS L'EAU

GARRIGUES (1951) ayant indiqué que l'huile de Ricin pure ne pénètre pas dans les racines de Pois, il était utile de vérifier cette notion sur les racines de Lupin avec de l'huile de Ricin émulsionnée.

Vingt Lupins, germés depuis 10 jours, ont subi pendant 14 jours l'action d'une huile de Ricin en émulsion extrêmement fine dans l'eau, à la concentration de 0,1 %.

A la fin de l'expérience, les Ricins, soigneusement lavés à l'eau courante, essuyés au papier Kleenex, sont pesés, mesurés, séchés, pesés à nouveau et soumis à une extraction par l'alcool absolu au Soxhlet. L'huile de Ricin est en effet très soluble dans l'alcool. Vingt témoins subissent le même traitement.

Les résultats sont consignés au tableau VIII.

TABLEAU VIII

SUJETS	Poids frais	Poids sec	Poids du résidu huileux	% résidu huileux poids sec
Lupins témoins	50 gr	3 gr	0,246 gr	8,2 %
Lupins traités	51 gr	4 gr	0,498 gr	12,4 %

Le pourcentage du résidu huileux est nettement plus élevé par rapport au poids sec chez les Lupins ayant séjourné sur une émulsion d'huile de Ricin que chez les témoins.

Les courbes de croissance (Fig. 42) permettent de constater que les racines des plantules témoins ont acquis un allongement supérieur aux racines des plantes traitées. Les hypocotyles sont sensiblement de même taille.

L'examen des préparations colorées par le Noir Soudan montre que, chez les plantules traitées, les lipides sont demeurés dans les racines, où ils n'ont pas provoqué de recloisonnements cellulaires. Leur ascension dans le collet et l'hypocotyle est minime.

Cette constatation explique les faibles différences relevées entre témoins et sujets traités quant à l'allongement des hypocotyles.

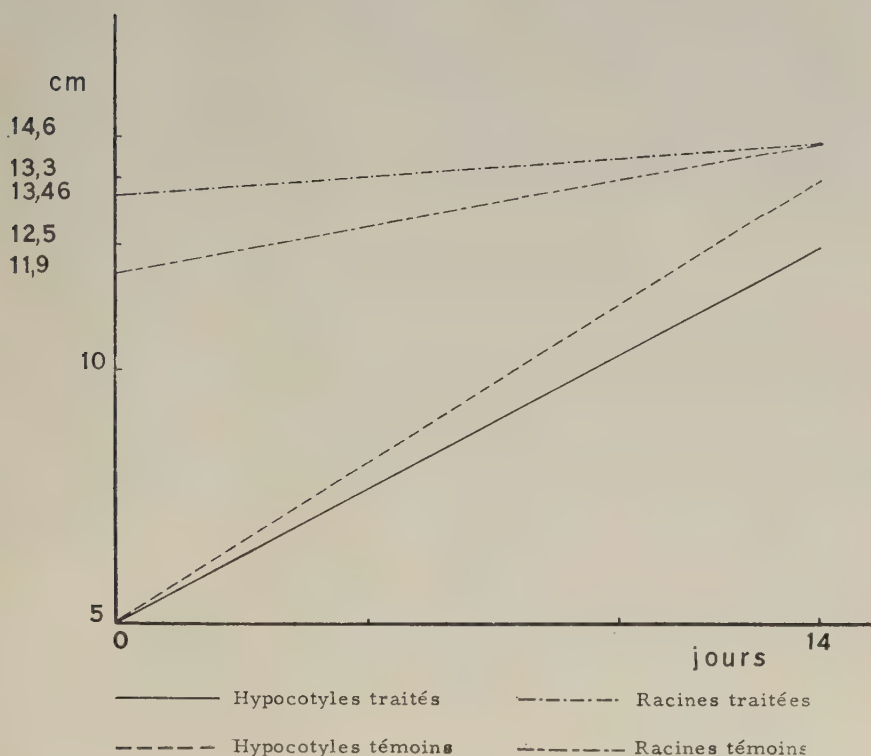


Fig. 42. — Moyennes d'allongement des racines et des hypocotyles chez des Lupins placés sur eau et émulsions d'huile de ricin à 0,1 % dans l'eau, au bout de quatorze jours. L'inhibition est sensible pour les racines, inexistante pour les hypocotyles.

C. — *Pisum sativum*

Des plantules de 5 jours sont laissées 48 h sur des émulsions de graisse mammaire humaine à 0,01 % et 0,1 %.

Vingt-quatre heures après, les lipides ont pénétré dans l'assise subéreuse et les poils absorbants pour les deux concentrations, ainsi que tout au long de la racine, dans les assises les plus externes, montant dans l'épicotyle, jusqu'à 2 cm au-dessus du collet, pour la concentration de 0,1 %.

Ces plantules sont placées huit jours dans un milieu aqueux normal ; on constate alors que les lipides sont parvenus aux nervures principales des feuilles par les vaisseaux du bois. Ceux-ci, dans les régions de la racine proches du collet, contiennent d'importantes masses colorables par le Noir Soudan, dont l'ascension s'effectue lentement.

Cette ascension des lipides s'effectue également par les assises internes du parenchyme cortical, l'endoderme et le péricycle, ainsi que les assises externes de la moelle.

Chez les témoins, fixés en même temps que les plantules traitées, on ne peut mettre en évidence que quelques granulations lipidiques dans la région procambiale.

Aucun recloisonnement provoqué par l'apport de lipides actifs n'a été observé.

D. — *Allium cepa*

Nos expériences ont porté sur des racines de bulbes d'Oignon ayant atteint dans l'eau une longueur moyenne de 2-3 cm.

Elles ont confirmé l'absorption des lipides par les racines et permis d'étudier la pénétration de substances mitoclasiques liposolubles.

1°) *Absorption de lipides purs*

Après six jours de contact avec une graisse mammaire fondue, les racines ne paraissent souffrir d'aucun phénomène toxique. Les lipides n'ont pas pénétré dans le méristème radiculaire, le périblème, ni le plérome, où l'on ne retrouve que quelques granulations soudanophiles dans les espaces intercellulaires.

Par contre, les lipides ont pénétré dans les cellules externes de la coiffe et celles du dermatogène.

2°) *Absorption de lipides émulsionnés*

Chez les bulbes, placés sur des émulsions de graisse mammaire humaine aux concentrations de 2 %, 3 %, 4 % et 6 %, on observe une diminution nette de l'allongement des racines, surtout pour les fortes concentrations.

Les racines remises dans l'eau, après quatre semaines de traitement, reprennent leur croissance et atteignent six semaines plus tard, en moyenne, 20 cm de longueur.

A aucun moment l'on ne remarque de tuméfaction terminale ou subterminale.

Des fixations au Regaud, suivies de colorations par le Noir Soudan, permettent d'observer de fines granulations entre les membranes des cellules méristématiques, ainsi que de rares globules intracytoplasmiques. La même coloration sur des méristèmes radiculaires, fixés au formocalcium de Baker et coupés à congélation, révèle, en outre, des granulations sou-

danophiles intravacuolaires, ainsi que de nombreux globules lipidiques occupant les espaces intercellulaires.

Dans toute la région subérifiée, les lipides envahissent la couche subéreuse et le parenchyme cortical ; ils se fixent principalement autour des noyaux, dont très peu renferment des éléments soudanophiles.

Les lipides remontent le long des racines par les assises externes et les vaisseaux, passent dans le plateau du bulbe et les écailles, pour s'élever dans les feuilles, se différenciant nettement de la multitude des microsomes soudanophiles de ces régions.

Dans les écailles du bulbe et les feuilles, ils se répartissent électivement autour des noyaux et des leucoplastes.

3°) *Absorption de substances mitoclasiques liposolubles*

Les expériences précédentes établissant qu'il existe dans les racines d'*Allium cepa* des voies d'accès naturelles pour les lipides, il était tentant d'introduire par ce moyen des substances mitoclasiques liposolubles.

Des essais avec l'acénaphthène à la concentration de 0,05 % dans la graisse d'épithélioma mammaire, elle-même en émulsion à 0,1 % dans l'eau, et avec le benzène à la concentration de 0,07 % dans une huile d'arachide, elle-même en émulsion à 0,1 % dans l'eau, montrent que le solvant lipidique permet d'amplifier et de prolonger l'action des substances mitoclasiques liposolubles.

II. — PENETRATION ET TRAJET DES LIPIDES EMULSIONNES

Les expériences nombreuses faites sur des plantules de Ricin, de Lupin et de Pois, nous permettent de schématiser de manière générale les phénomènes de pénétration et le trajet des lipides émulsionnés dans les plantules.

Les racines absorbent des lipides émulsionnés ; cette pénétration s'opère par les poils absorbants, au niveau de la zone subéreuse, et, très faiblement, par les régions méristématique et subterminale.

Des globules lipidiques, plus ou moins volumineux, s'insèrent entre les cellules des assises subéreuse et pilifère, ou pénètrent dans les poils absorbants. Ils envahissent ensuite les espaces intercellulaires et ne sont introduits que très faiblement dans le cytoplasme des cellules des couches subéreuse et corticale.

Après quelques jours, les tissus entourant le cylindre central sont entièrement envahis ; les lipides imprègnent alors les cellules endodermiques et souvent le péricycle ; ils montent dans le végétal le long de ces assises et s'infiltrant dans la moelle entre les faisceaux libéro-ligneux. Cette infiltra-

tion des lipides dans le cylindre central de la racine paraît facilitée par la structure primaire : elle se produit par les espaces cellulotiques entourant les faisceaux.

Les vaisseaux ligneux eux-mêmes s'emplissent de lipides soit sous forme de globules séparés, soit de masses compactes, en particulier près des points d'émergence des radicelles (Pl. XX, fig. 3 et 4). Ces globules et ces masses montent lentement vers les sommités caulinaires.

Pendant ce temps, un double courant ascensionnel se dessine dans le cylindre parenchymateux circonscrit au cylindre central :

— le long des assises externes de l'écorce au niveau du collet, puis de l'assise sous-épidermique et de l'épiderme de l'hypocotyle ;

— le long du cylindre central par les assises internes de l'écorce, de l'endoderme et du péricycle. Les lipides s'y élèvent sensiblement à la même hauteur qu'au long de l'épiderme. Les coupes transversales révèlent leur pénétration dans les cellules de l'endoderme et du péricycle ; les assises médullaires périphériques sont également envahies. Seules les cellules libériennes paraissent opposer aux lipides une barrière infranchissable.

Au sommet de la plantule on trouve des lipides dans le méristème apical, les tissus parenchymateux et les stomates, les poils qui forment sur l'apex et les jeunes feuilles un véritable feutrage, et en particulier sur l'anneau cutinisé qui leur sert d'embase.

Si l'ascension des lipides par les vaisseaux permet d'expliquer leur apparition dans les feuilles, seule l'ascension au long de la cuticule explique leur accumulation sur ces anneaux cutinisés.

Il convient enfin d'être circonspect dans l'interprétation des images obtenues qui doivent, pour chaque stade, être comparées à des témoins, en raison de la mise en circulation par les cotylédons de lipides endogènes dont le courant discret, localisé dans les assises procambiales et la cuticule, est de nature à fausser certains résultats.

EN CONCLUSION

Les huiles et les graisses actives n'exercent sur les racines en l'absence de blessures aucune action hyperplasante.

Elles sont cependant absorbées, de même que la plupart des lipides inactifs.

Cette absorption est facilitée par l'émulsion préalable des corps gras.

Elles suivent dans le végétal des voies circulatoires parenchymateuses, en même temps qu'elles envahissent certains éléments conducteurs.

Elles exercent sur les plantules des effets d'inhibition, et à des concen-

trations supérieures à 2 % se révèlent toxiques pour les méristèmes radiculaires.

Ces expériences font considérer les corps gras comme des vecteurs de substances liposolubles qui peuvent être introduites dans les plantes sans lésion tissulaire ; elles facilitent l'interprétation des phénomènes toxiques observés sur les racines de certaines plantes par des engrais naturels particulièrement riches en lipides (tourteaux).

CONSIDERATIONS GENERALES

ET CONCLUSIONS

I. — RESUME DES RESULTATS OBTENUS

Avant de confronter les résultats que nous avons rapportés avec les problèmes qu'ils soulèvent, il convient de les résumer brièvement.

1. — Une fraction de l'insaponifiable contenu dans des lipides d'origine animale et végétale provoque des néoformations parenchymateuses sur les tiges de certains végétaux supérieurs.

2. — Ces néoformations ne se produisent que si le facteur actif est introduit pendant le déroulement de phénomènes cicatriciels affectant les parenchymes.

3. — Ces réactions ont un caractère spécifique, en relation avec la fraction active et le végétal utilisé.

4. — Les constituants des lipides sont, par eux-mêmes, inactifs. La fraction active, contenue dans l'insaponifiable de certains lipides, est introduite, avec les lipides, à l'intérieur des cellules et des noyaux.

5. — Des lipides d'origine étrangère peuvent, sans démasquage préalable, être mis en évidence par coloration au Noir Soudan :

— dans le cytoplasme, sous forme de globules libres ou fixés sur des éléments figurés (mitochondries et plastes) ;

— dans le noyau où on les observe dans le nucléole de manière fugace, dans l'enchylème sous forme de globules, sur les chromocentres, les éléments chromonématiques et les chromosomes eux-mêmes lors des mitoses.

Lorsque la masse néoformée a pris une certaine importance, les lipides intracytoplasmiques et intranucléaires ne peuvent plus être mis en évidence par les procédés habituels de coloration.

En dehors de la zone réactionnelle, la plus grande partie demeure confinée dans les espaces intercellulaires et les méats, sans subir apparemment de modification. Une faible part de ces lipides pénètre dans le cytoplasme et les noyaux des cellules quiescentes.

6. — L'utilisation des procédés de démasquage montre un faible enrichissement de la zone hyperplasiée en lipoprotéines, localisées dans les noyaux et le cytoplasme.

7. — La pénétration intranucléaire des lipides paraît jouer un rôle important dans les réactions des végétaux.

Tous les lipides qui s'introduisent dans les noyaux n'entraînent pas forcément des divisions cellulaires.

Par contre, tous les lipides qui provoquent des hyperplasies cellulaires pénètrent dans les noyaux. En effet, il n'existe aucune huile active qui ne puisse être révélée, au moins à l'un des stades de la réaction, dans certains noyaux des parenchymes sensibles.

8. — En dehors des hyperplasies qu'ils déterminent dans les parenchymes, les insaponifiables actifs ne semblent pas influencer la croissance et le développement normal des plantes. Par contre, à l'occasion de leur circulation, les lipides provoquent des effets d'inhibition de croissance, ainsi que diverses malformations des sommités caulinaires.

Au cours de la translocation verticale, les lipides ne suivent pas un trajet nettement polarisé. Ils remontent surtout vers l'apex du végétal, se fixant au passage sur les méristèmes des bourgeons axillaires. Seuls quelques tissus semblent opposer une barrière au passage des lipides (collenchyme, sclérenchyme et liber).

9. — Les lipides peuvent également être absorbés par les racines, soit dans le sol, soit en émulsions aqueuses. Ils circulent dans la plante et, selon leur répartition, ils entraînent diverses inhibitions de croissance, mais non des recloisonnements cellulaires.

II. — DISCUSSION GENERALE

Nos investigations ont porté sur un domaine trop restreint pour que nous puissions confronter sans réserves les résultats obtenus aux problèmes qu'ils soulèvent.

Nous ne nous dissimulons pas les insuffisances de ce travail. Il eût exigé, pour être plus complet, une étude approfondie de l'insaponifiable d'une huile active extraite dans des conditions constantes, en procédant à son fractionnement, en particulier par la chromatographie.

Il est nécessaire de rappeler à ce propos l'énorme complexité des lipides végétaux et animaux, la difficulté extrême que l'on éprouve à obtenir des produits ayant toujours les mêmes caractéristiques.

Cette complexité ne provient pas seulement de variations dans les méthodes d'extraction, mais aussi de facteurs multiples qui agissent sur la composition des huiles et des graisses ; les plus importantes sont : le climat pour les plantes oléagineuses et la nourriture pour les animaux.

De même certaines techniques, auxquelles nous n'avons pu recourir, auraient apporté des renseignements précieux : cultures de tissus, emploi de graisses ou d'acides gras marqués, procédés d'historadiographie.

Les études cytophysiologiques et biochimiques doivent donc être poursuivies et approfondies.

Si imparfaites qu'elles soient, ces recherches établissent que des lipides d'origine étrangère provoquent, grâce à une ou plusieurs fractions actives qu'ils renferment, des néoformations parenchymateuses sur les tiges de certains végétaux supérieurs.

Nous devons tenir pour négligeables les réactions inconstantes du cambium, des tissus de revêtement et de soutien, vraisemblablement provoquées par les auxines, dont la présence dans les huiles animales et végétales est bien connue.

Seules les réactions des parenchymes doivent être considérées comme spécifiques des effets des huiles et graisses actives introduites dans les tiges ; elles seules retiendront donc notre attention.

Nous les comparerons tout d'abord aux effets que produisent sur ces mêmes parenchymes divers agents hyperplasants ou « tumorigènes », afin de mieux situer ces réactions parmi les néoformations déjà connues des végétaux. Cette comparaison s'impose sur les plans anatomique et cytologique, au point de vue physiologique et même quant à l'étiologie.

Nous soulignerons ensuite l'importance des phénomènes de perméabilité tissulaire, de perméation cytoplasmique et nucléaire dans la genèse de ces réactions parenchymateuses.

Nous tenterons enfin de rapprocher les facteurs actifs contenus dans l'insaponifiable de certains lipides d'agents déjà connus comme régulateurs de croissance ou qui interviennent dans la floraison.

*
* *

A. — NEOFORMATIONS PARENCHYMATEUSES, CALS ET TUMEURS

Au cours de l'exposé de nos recherches, nous avons qualifié de « tumeurs » les néoformations médullaires et corticales provoquées par les lipides actifs.

Nous devons maintenant vérifier si cette qualification peut être conservée et si ces néoformations doivent être rangées parmi les cals cicatriciels, les tumeurs bénignes ou les tumeurs malignes des végétaux, dont l'exemple le mieux étudié est le crown-gall.

1°) Néoformations parenchymateuses et cals cicatriciels

Chez l'Homme et l'Animal certaines cellules, dont l'activité fonctionnelle est intense, sont hautement différenciées : neurones, myofibrilles. Blessées, ces cellules dégèrent, mais ne se recloisonnent pas.

Chez les Plantes supérieures par contre, à l'exception des tubes criblés du liber qui deviennent anucléés, toutes les cellules vivantes se cicatrisent. Elles ont conservé un certain pouvoir de division quel que soit leur degré de différenciation. Même des cellules hautement spécialisées, sécrétrices d'huiles ou de tanins, de la moelle et de l'écorce chez *Ricinus communis*, recommencent à se diviser, sans perdre leur caractère cytoplasmique spécial (R. BLOCH, 1952).

Selon l'importance de la blessure (piqûre ou section de tige), sa localisation (nœud ou entrenœud), la mise en contact avec d'autres tissus ou le sol (greffes et boutures), la cicatrisation se traduira par l'édification d'un cal plus ou moins volumineux.

On ne peut considérer comme des cals que les réactions tissulaires se produisant à la suite de blessures, sans intervention d'un facteur exogène quelconque.

In vivo les cals cicatriciels ne résultent jamais de la réaction spécifique d'un seul tissu, mais d'une hyperplasie, en général régulière, de tous les

tissus blessés. Leur croissance est limitée ; les zones externes subissent le plus souvent une subérification. Ils ne peuvent être greffés.

In vitro, sur des tissus privés de leurs corrélations physiologiques normales, les réactions callogènes sont très différentes. Sans entrer dans des détails, nous retiendrons simplement que, par rapport aux explantats, les cals sont très volumineux. Ils peuvent dans certains cas (Chou maraîcher) être obtenus uniquement à partir du parenchyme médullaire (GAUTHERET, 1942), mais, généralement, il convient d'associer des fragments de xylème à ce parenchyme pour obtenir la production de cals (BARKER, 1953 ; JABLONSKI et SKOOG, 1954).

Ces cals peuvent être repiqués et constituer *in vitro* des colonies de formes diverses. Ils peuvent être greffés sur des fragments d'organes et peuvent subir l'influence histogène de bourgeons (CAMUS, 1948 ; WETMORE et SOROKIN, 1955). Mais ils ne peuvent être greffés sur des plantes. *In vivo* les greffons dégénèrent.

Ces réactions cicatricielles qui se développent *in vitro* n'ont plus de cals que le nom. Elles sont à la limite des néoformations tumorales dont elles sont très voisines aux points de vue anatomique et cytologique.

Il n'est pas inutile de rapprocher ce que dit GAUTHERET (1959), au sujet de la néoformation et de l'organisation dans les cultures de tissus végétaux, de la définition que le même auteur donne des processus tumoraux :

« L'étude histologique de ces néoformations, écrit-il à propos des cultures de tissus, montre qu'elles sont fréquemment dépourvues d'organisation et résultent donc d'une multiplication anarchique des cellules » (1).

Quant aux tumeurs, ce sont « des masses tissulaires dépourvues d'organisation, dont les cellules prolifèrent d'une manière plus ou moins anarchique » (2).

Nous comparerons donc à la fois les néoformations parenchymateuses provoquées par les fractions actives de certains lipides avec les tumeurs végétales et les proliférations anarchiques des cultures de tissus.

2°) Néoformations parenchymateuses et tumeurs végétales

a — Caractéristiques générales des réactions tumorales

A l'exception de certaines tumeurs génétiques, les tumeurs végétales, quel que soit leur agent causal, ont une caractéristique commune : elles se produisent à la suite d'une blessure.

(1) R. J. GAUTHERET. La culture des tissus végétaux. Masson édit., Paris, 1959, p. 347.

(2) *Ibid.*, p. 744.

Selon l'origine des agents déposés dans les tissus blessés, selon le moment où ils vont agir, les réactions vont différer.

Les piqûres d'insectes, les sécrétions de leurs larves, seront à l'origine des cécidies. Certaines Bactéries, en particulier *Agrobacterium tumefaciens*, vont déterminer des tumeurs envahissantes que l'on a souvent comparées aux cancers animaux. Les régulateurs de croissance et les substances auxinomimétiques provoquent des néoformations dont le développement demeure limité. Il en est de même pour les réactions tissulaires à l'origine desquelles figure un lipide actif.

Les tumeurs bénignes des végétaux, dont le type même est la galle d'insecte ou cécidie, sont caractérisées par des excroissances portées par les feuilles, les pétioles ou les tiges, et à l'édification desquelles concourent généralement plusieurs tissus. Ces tumeurs sont de taille définie ; elles ne récidivent pas si l'on en pratique l'exérèse, ne sont pas greffables et ne peuvent être cultivées *in vitro* sans adjonction d'auxines, comme les tissus normaux.

Les tumeurs dites malignes, dont le type est le crown-gall provoqué par *Agrobacterium tumefaciens*, sont caractérisées par des néoformations tissulaires complexes, à croissance indéfinie, à multiplication anarchique, récidivantes, greffables et susceptibles d'être cultivées *in vitro* sans adjonction d'auxines. Telles sont également les tumeurs génétiques obtenues sur certains hybrides du Tabac et les tumeurs virologiques. Les tissus anergisés à l'auxine acquièrent un comportement semblable et peuvent être greffés *in vivo*.

Les tumeurs provoquées par les facteurs actifs de certains lipides sont constituées par des néoformations parenchymateuses à multiplication anarchique dont la croissance est proportionnelle à l'étendue de la région envahie initialement. Un seul tissu concourt généralement à leur édification. Elles ne peuvent être greffées et ne récidivent pas. Nous n'avons pas tenté de les cultiver *in vitro*, le *Pelargonium* et le Ricin se prêtant mal à une telle expérimentation, mais il est très douteux que les résultats eussent été positifs.

b — Comparaison des différents types de tumeurs

Cette comparaison doit être faite aux points de vue anatomique, cytologique, physiologique et étiologique.

1. COMPARAISON ANATOMIQUE

Il convient de préciser la localisation tissulaire des réactions obtenues, puis de comparer les RÉACTIONS PARENCHYMATEUSES des différents types de tumeurs.

Localisation tissulaire des réactions

Seules les néoformations médullaires et corticales provoquées par les facteurs actifs contenus dans certains lipides apparaissent comme des réactions purement parenchymateuses, où se produit une dédifférenciation partielle.

Dans les tumeurs bénignes provoquées sur notre matériel par les régulateurs de croissance, ou le 2-4-D, la participation du cambium et de l'assise péricyclique est beaucoup plus importante que celle des parenchymes médullaire et cortical.

Dans le cas des cécidies, dont les aspects anatomiques sont des plus variés, il convient de noter un trait dominant : elles sont composées de plusieurs tissus organisés et l'on y observe le plus souvent la différenciation d'éléments conducteurs rattachés au système vasculaire de la plante.

Les tumeurs provoquées sur notre matériel — *Pelargonium*, Ricin et Tabac — par *Agrobacterium tumefaciens*, introduit dans les mêmes conditions que les lipides actifs, sont toujours constituées par du cambium intensément hyperplasié, auquel les parenchymes médullaire et cortical sont simplement associés. Le parenchyme cortical forme autour de la saillie tumorale une sorte de stroma nourricier dont l'hyperplasie régulière contraste avec l'aspect anarchique des néoformations cambiales.

Certes, de nombreux auteurs ont obtenu, en faisant varier les procédés d'inoculation des bactéries, des réactions tumorales du parenchyme cortical, isolées de tout contexte cambial. Christiane NOEL, chez le *Pelargonium*, BUVAT, chez la Tomate, ont ainsi provoqué la formation de petites tumeurs parenchymateuses où se dédifférencient rapidement des plages cribro-vasculaires.

Dans la grande majorité des cas, cependant, *in vivo* et sur notre matériel, la moelle ne réagit que par une cicatrisation banale autour des blessures (Pl. III, fig. 2). Des lésions directes de la moelle chez le *Pelargonium* et le Ricin ne donnent pas lieu à des tumeurs, à moins que les tissus voisins (cambium, parenchyme vasculaire) n'aient été souillés par les bactéries au cours de la manipulation.

Ces résultats trouvent leur confirmation dans les travaux de BRAUN (1956) qui a tenté d'obtenir *in vitro* la production de tumeurs en inoculant *Agrobacterium tumefaciens* à un fragment isolé de parenchyme médullaire de Tabac. Aucune réaction n'apparaît. Par contre, si l'on associe un fragment de xylème au parenchyme médullaire, les bactéries provoquent le développement de tumeurs volumineuses.

Comparaison des réactions parenchymateuses

Les tumeurs parenchymateuses provoquées par les facteurs actifs contenus dans certains lipides peuvent être comparées au crown-gall et sur-

tout aux cultures de tissus en ce qui concerne les phénomènes d'hyperplasie, d'hypertrophie et de dissociation.

— *Hyperplasie*. — Les premiers signes de l'hyperplasie médullaire provoquée par *Agrobacterium tumefaciens* chez *Pelargonium zonale* sont constitués par des recloisonnements concentriques autour de certains méats fortement sidérophiles. Puis ces foyers se rejoignent ; les méats s'effacent dans un parenchyme recloisonné composé de grandes cellules hypertrophiées, entourées de nappes ou de cordons de petites cellules hyperplasiées (Fig. 43).



Fig. 43. — Coupe longitudinale dans le parenchyme cortical d'une tige de *Pelargonium zonale* cinquante jours après inoculation d'*Agrobacterium tumefaciens*. On note de grandes cellules hypertrophiées entourées de petites cellules à noyaux volumineux.

Dans les tumeurs médullaires d'origine bactérienne on ne remarque qu'exceptionnellement des formations cribro-vasculaires et ces tumeurs, rares au demeurant, sont en tous points comparables anatomiquement à celles que provoquent les insaponifiables de lipides actifs (Fig. 44).

La prolifération *in vitro* du parenchyme médullaire de Sureau, étudiée

par CLAUSING et KARSTENS (1955), évoque les néoformations médullaires du Ricin. De même les proliférations corticales, obtenues *in vitro* par MOREL (1948) sur la tige de Lilas, peuvent être comparées aux néoformations corticales qu'entraîne chez le Ricin l'injection de lipides actifs dans le canal médullaire.

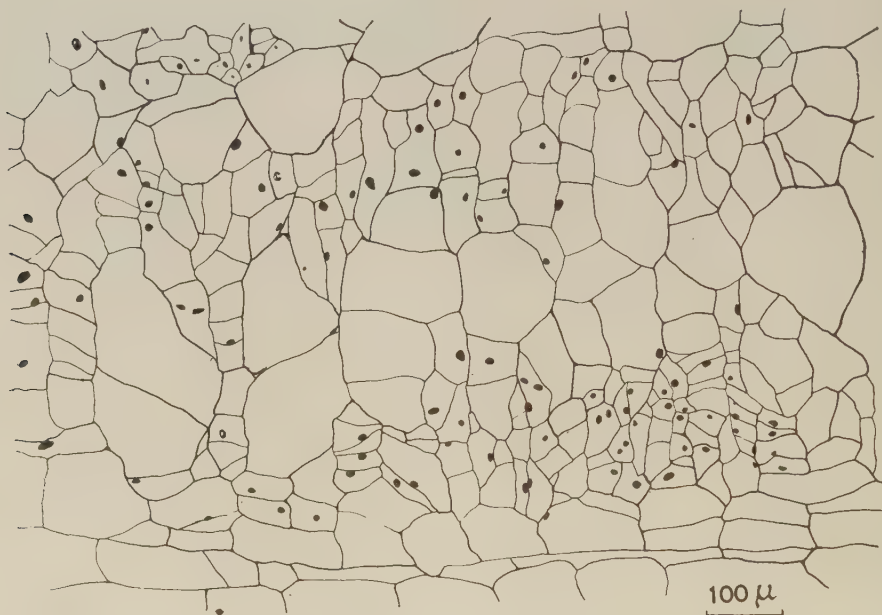


Fig. 44. — Coupe longitudinale dans le parenchyme médullaire d'une tige de *Pelargonium zonale* 25 jours après application de lipides actifs. On note la présence de grandes cellules hypertrophiées et recloisonnées entourées de cellules néoformées, petites, à noyaux volumineux.

Nous avons déjà signalé, en décrivant les réactions de *Nicotiana tabacum*, l'analogie frappante de nos résultats et des expériences de SKOOG et MILLER (1957) qui, en associant la kinétine et l'acide indole acétique, ont obtenu *in vitro* des recloisonnements anarchiques des cellules médullaires.

La néoformation d'un nodule cribro-vasculaire à partir d'un canal sécréteur de Topinambour dans une culture de phloème, telle que GAUTHIER en restitue l'image (1), évoque irrésistiblement les nodules hyperplasiques, entourés de gaines vasculaires, que nous avons observés dans les tumeurs âgées de *Pelargonium* sous l'effet des lipides actifs (cf. Fig. 14).

(1) *Op. cit.*, p. 386.

— *Hypertrophie et dissociation.* — Tous les auteurs qui ont décrit le crown-gall ont insisté sur la présence de cellules géantes dans les tissus hyperplasiés.

Nous avons observé, de même, des cellules fortement hypertrophiées dans les parenchymes recloisonnés sous l'effet des lipides.

Les hypertrophies cellulaires signalées dans les cultures de tissus, et qui sont souvent généralisées à la masse de l'explantat, doivent surtout être rapprochées des hypertrophies que provoquent certaines huiles sur le parenchyme cortical de *Ricinus sanguineus*.

De même les dissociations cellulaires observées dans certaines cultures de tissus évoquent les dissociations de cellules médullaires, que nous avons remarquées, sous l'effet de certains lipides, chez le Tabac et surtout le Ricin.

En conclusion

Bien que de nombreux points communs puissent être relevés entre les tumeurs provoquées par les facteurs actifs de certains insaponifiables et les autres tumeurs connues des végétaux, il n'en demeure pas moins que, du point de vue anatomique, une différence importante subsiste, due à la spécificité de la réaction parenchymateuse dans les néoformations que nous avons décrites.

2. COMPARAISON CYTOLOGIQUE

La différenciation partielle des éléments paraplasmiqnes est banale. On la retrouve dans tous les tissus en voie de cicatrisation ou hyperplasiés, comme, du reste, dans les cultures de tissus.

Sur le plan caryologique nous avons remarqué, surtout pour les tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale*, une double évolution nucléolaire et chromocentrique précédant les mitoses, l'abondance des images polyplôides lors des premiers recloisonnements et des anomalies de la mitose aboutissant à la formation de noyaux accolés.

Evolution nucléolaire précédant les mitoses

L'évolution nucléolaire qui précède les premières mitoses des cellules médullaires en voie de recloisonnement n'est pas spécifique de l'action des lipides. Nous l'avons observée sous l'effet de simples blessures dans le parenchyme médullaire au cours de la cicatrisation. De nombreux auteurs ont déjà décrit des phénomènes de croissance ou de sécrétion nucléolaire analogues.

Dès 1897, MOLLIARD signalait la présence dans les cellules épidermiques

de *Galium mollugo* L., attaquées par *Phytoptus Galii*, de nucléoles atteignant $12\ \mu$ de diamètre au lieu de $1,5\ \mu$, qui se divisent « sans que la division du noyau suive immédiatement ».

MAGNUS (1914) constatait, dans certaines galles, un gigantisme nucléolaire antérieur à toute prolifération. MEYER (1948 et 1950) formule des observations semblables. A propos des phénomènes de dédifférenciation, BEHRE (1929) signale une croissance nucléolaire précédant les premières mitoses ; de même FISCHER (1934) dans les régions proches des blessures.

Pour MALVESIN-FABRE et EYMÉ (1950), la première réponse de *Limodorum abortivum*, dans les cellules à mycorhizes, est constituée par une multiplication des nucléoles, dont le nombre passe de un à quatre ou à huit.

Ces faits doivent être rapprochés des sécrétions nucléolaires observées chez une Algue, *Batosphora Oesterdi*, par S. PUISEUX-DAO (1958), et chez le Chironome par J. MASSON (1958).

Même dans les noyaux au repos, des protubérances nucléolaires ont été décrites par de nombreux auteurs (1).

L'augmentation du nombre des nucléoles, antérieure aux mitoses, ne saurait donc être retenue comme un critère du caractère tumoral de certaines réactions.

Endomitoses et polyploïdie

Nous avons signalé les modifications qui affectent les chromocentres, avant les mitoses, dans les cellules non encore recloisonnées, soumises aux effets de lipides actifs.

Elles se traduisent par la disparition des chromocentres collectifs au profit d'éléments chromonématiques peu colorables associés par paires, et par l'apparition consécutive de nombreux chromocentres ponctiformes, qui sont susceptibles de disparaître à leur tour dans des conditions analogues.

Cette évolution correspond selon nous à de simples endomitoses somatiques, dont le nombre se trouve brusquement accru sous l'effet des facteurs actifs introduits avec les lipides dans les parenchymes différenciés.

Des endomitoses ont été décrites dans les tumeurs de crown-gall par LEVINE (1931) qui, sans les nommer ainsi, et en faisant des réserves sur leur signification, en a découvert une image particulièrement démonstrative dans un parenchyme hyperplasié du collet chez *Beta vulgaris*.

La présence de noyaux polyploïdes dans les tissus de crown-gall, signalée par WINGE (1927), LEVINE (1931), KOSTOFF et KENDALL (1933), KOSTOFF

(1) Il convient de mentionner particulièrement à ce sujet les travaux de P. DANGEARD (1934), d'ARCHAMBAULT (1936), de BENOIST (1936) et de EICHORN (1938).

(1934), a été la cause de nombreuses discussions sur l'origine de la réaction tumorale.

Les recherches effectuées, à l'aide de régulateurs de croissance, sur les processus d'endopolyploïdie, ont démontré que, contrairement à l'opinion de certains auteurs (LENDSTROM et KROSS, 1931 ; GREENLAF, 1938), aucune polyploïdie ne serait induite par les phytohormones. Celles-ci, en provoquant des divisions, mettent simplement en évidence la polyploïdie de certains noyaux, résultant de phénomènes naturels d'endomitose qui se déroulent dans des cellules apparemment quiescentes (COLEMAN, 1950 ; LEVAN et LOFTY, 1949).

Cependant, le nombre et l'importance des noyaux polyploïdes, à la limite des zones saines, dans les parenchymes des tumeurs de crown-gall et dans les cellules nourricières des cécidies (GOLDSTEIN, 1928 ; MOL, 1928 ; GARRIGUES, 1951 ; TURIAN, 1958), doivent être rapprochés de nos observations sur les effets des lipides actifs.

Noyaux polyploïdes, prophases endomitotiques, sont révélés essentiellement à la périphérie de la tumeur, dans les régions par où elle s'accroît recloisonnements.

Le processus d'endopolyploïdisation fait « tache d'huile », s'éloignant graduellement du foyer tumoral au fur et à mesure que des mitoses, survenant à un rythme rapide, augmentent le nombre des noyaux diploïdes et viennent normaliser, peut-être, la répartition des stocks chromosomiques.

Il ne semble donc pas qu'il y ait lieu d'attacher un intérêt excessif à ces phénomènes d'endopolyploïdisation qui reflètent surtout la réaction initiale de noyaux hautement différenciés, quel que soit l'agent causal des recloisonnements.

Anomalies de la mitose et noyaux accolés

Les autres anomalies caryologiques, que nous avons observées, tiennent également plus à l'âge des cellules qu'à la nature de l'agent actif : les chromosomes retardataires à l'anaphase, les ponts télophasiques, les noyaux soudés ou accolés, les fusions nucléaires, les troubles de la cytodierèse avec formation de membranes aberrantes sont connus de tous les auteurs qui ont provoqué des recloisonnements dans des tissus différenciés, ou qui ont troublé, par des procédés divers, l'évolution normale des méristèmes.

Ces anomalies ont été signalées par de nombreux auteurs. Nous rappellerons notamment les travaux de MARQUARDT (1937) concernant l'action des rayons X sur les méristèmes de *Scilla campanulata*, de GAVAUDAN (1939 a et b) sur l'action du naphthalène, des α -naphtyle éthers, de l' α -chloranaphtène et du P.-dichlorobenzène, de SENTEIN (1941) consacrés à l'action des toxiques sur les cellules en

division, de Haig DERMEN (1941) relatifs à l'action de l'acide naphthalène acétique sur le Haricot, de G. MANGENOT (1942) sur les effets de la colchicine et des substances mitoclasiques, de E. STEIN (1942) sur un mutant d'*Antirrhinum majus* traité par le radium, de GALINSKY (1949) concernant l'action de certains phosphates sur les méristèmes radiculaires d'*Allium*, de LEVAN et LOFTY (1949) qui décrivent dans le parenchyme cortical de la racine d'*Allium* des anomalies de la mitose simplement révélées par l'acide naphthalène acétique, de GARRIGUES (1950) à propos des tumeurs bactériennes de *Vicia faba*.

Des accolements nucléaires, suivis ou non de fusions, ont été décrits dans la plupart des travaux que nous venons de mentionner. Mais ils existent aussi dans des tissus végétaux qui n'ont subi aucune intervention étrangère : parmi les auteurs qui les ont décrits rappelons les travaux de G. MANGENOT (1938) à propos des cellules folliculeuses de l'ovule de Pin et de BUVAT (1944) qui décrit des fusions nucléaires dans le collenchyme des tiges de Tomate.

En conclusion

Aucun phénomène caryologique n'est donc caractéristique de la notion de tumeur chez les végétaux.

Toutes les anomalies constatées sont dues au fait qu'un tissu différencié est amené à subir un processus de dédifférenciation souvent incomplet.

Ce « retour en arrière » ne s'accomplit pas sans heurt dans les parenchymes, mais il se régularise au fur et à mesure que les mitoses se déroulent et que l'ensemble du tissu rajeunit.

Ainsi que l'a très justement noté GARRIGUES (1950) à propos du crown-gall, « ces figures atypiques sont, lorsqu'on considère l'ensemble de la tumeur, peu nombreuses et visibles dès le début de la formation de la tumeur. Elles ne paraissent pas se renouveler au cours de la croissance tumorale, au point que, dans les tumeurs âgées, il ne semble point y en avoir : seuls s'observent de-ci, de-là, quelques noyaux de grande taille ou quelques cellules plurinucléées ».

3. COMPARAISON PHYSIOLOGIQUE

Croissance

Les tumeurs parenchymateuses provoquées par l'insaponifiable des lipides actifs ont une croissance limitée.

Elles se rapprochent donc des tumeurs bénignes, aussi bien des cécidies que des néoformations provoquées *in vivo* par les hétéro-auxines.

Elles diffèrent, par contre, des tumeurs provoquées par *Agrobacterium tumefaciens*, ainsi que des cultures de tissus anergiées à l'auxine, dont la croissance n'est arrêtée que par la nécrose.

Les régulateurs de croissance demeurent sans effets sur les tumeurs parenchymateuses provoquées par les lipides actifs, comme sur les tissus de crown-gall ou les cultures anergiées. Mais ils déclenchent dans les tissus voisins (péricycle, cambium) des réactions spécifiques.

Aucune sommation d'effets ne peut être obtenue en inoculant *Agrobacterium tumefaciens* dans les parenchymes déjà recloisonnés sous l'effet des lipides. Ces parenchymes sont insensibles aux incitations bactériennes qui peuvent agir seulement sur les zones non recloisonnées et sur les tissus non imprégnés de lipides.

Cette observation établit :

1) qu'un tissu hyperplasié, tout en produisant les « wound hormones » indispensables à l'action d'*Agrobacterium tumefaciens* sur les tissus voisins, ne peut plus réagir à de nouvelles incitations ;

2) qu'un tissu non recloisonné et simplement imprégné de lipides, même inactifs, cesse également de réagir.

De même, un lipide actif ne peut plus agir sur le parenchyme médullaire hyperplasié, quelle que soit l'origine de cette hyperplasie.

Métabolisme

La disparition des réserves hydrocarbonées des tissus hyperplasiés est banale.

La métabolisation des lipides dans les tumeurs parenchymateuses peut être rapprochée des observations faites par BUVAT (1944) au sujet de la différenciation des « lipidosomes » dans les cultures *in vitro* de parenchyme libérien de Carotte : « Leur grosseur diminue lentement et tout se passe comme s'ils étaient utilisés dans le développement du tissu néoplasique ».

Facteurs physiques

Température. — Une certaine température apparaît comme un facteur essentiel de la formation et du développement des tumeurs. Qu'il s'agisse du crown-gall, des cultures de tissus ou des néoformations parenchymateuses provoquées par les lipides, il existe toujours un optimum de température, variable selon les plantes et l'origine des tumeurs.

Lumière. — La lumière favorise le développement des cultures de tissus, à condition que celles-ci soient soumises à une température supérieure à 26° (CAPITE, 1955).

Dans un travail déjà ancien (1943) nous avons montré que les cultures atténuées d'*Agrobacterium tumefaciens* cessent de provoquer la formation de tumeurs, si les plantes sont placées à l'obscurité aussitôt après les ino-

culations. Il n'en est pas de même cependant avec des cultures virulentes qui induisent à l'obscurité la formation de tumeurs importantes sur *Pelargonium zonale*.

Les effets des lipides actifs sont à rapprocher de ceux des cultures atténuées d'*Agrobacterium tumefaciens* : à l'obscurité, les néoformations médullaires de *Pelargonium* cessent de se produire, alors que le processus cicatriciel se trouve ralenti et prolongé, et que les tiges blessées continuent cependant de former des auxines.

Etat physique du milieu. — L'état physique du milieu nutritif qui joue un rôle important dans le développement des cultures de tissus est également à retenir.

Nous devons souligner que les néoformations médullaires et corticales produites sous l'effet des lipides actifs ne sont aucunement le résultat de phénomènes asphyxiques dus à la présence d'huile dans les méats et les cellules.

Une huile de coton inactive envahit les tissus de la même façon qu'une huile de coton enrichie d'un insaponifiable de graisse mammaire ; cependant, seule cette dernière entraînera la formation d'une hyperplasie réactionnelle caractéristique.

De même, si les verrucosités, qui apparaissent à la surface des tiges de *Ricinus sanguineus*, peuvent trouver leur origine dans des injections d'huiles minérales, l'hyperplasie corticale, qui accompagne les verrucosités, est le seul test valable de l'activité des lipides injectés.

Il est certain, toutefois, que les huiles et les graisses qui se sont infiltrées profondément dans les tissus sains, autour de la néoformation parenchymateuse, « déconnectent » en quelque sorte la zone réactive de l'ensemble du végétal et suppriment certaines corrélations physiologiques. C'est la raison pour laquelle, à nos yeux, ces néoformations parenchymateuses se rapprochent avant tout des cultures de tissus.

Elles constituent, de par leur isolement physiologique, des cultures de tissus *in vivo*.

4. COMPARAISON ÉTIOLOGIQUE

Le problème fondamental ne réside pas dans les anomalies anatomiques ou cytologiques constatées, mais essentiellement dans l'origine du processus tumoral, dans l'enclenchement du cycle mitotique qui va donner une tumeur parenchymateuse, une cécidie, un crown-gall.

Bien plus importante que des dispositions tissulaires anarchiques ou des anomalies caryologiques, nous apparaît, pour différencier les tumeurs vraies des réactions hyperplasiques, la notion établie par BRAUN (1947) d'un conditionnement nécessaire de la réaction tumorale.

Cette phase de conditionnement correspond, pour KLEIN (1953-1954), au temps de contact minimum entre la bactérie et le tissu blessé, suivi d'un apport auxinique, pour que s'encleîne un processus ininterrompu de mitoses. La conjonction de ces différents facteurs entraîne la formation du « principe inducteur tumoral ». L'absence de l'un d'eux fait que les cellules, incomplètement « conditionnées », vont donner naissance à un cal cicatriciel, non à une tumeur.

A ce point de vue, les tumeurs bénignes se distinguent nettement du crown-gall. Les cécidies se développent souvent après l'éclosion de l'œuf et sous l'effet des sécrétions de la jeune larve qui agissent sur des tissus dont la cicatrisation est achevée depuis longtemps. De même, les néoformations provoquées par les régulateurs de croissance ou le 2-4-D. peuvent se développer en l'absence de blessures. La blessure n'est donc pas indispensable, et la concomitance dans l'intervention de deux facteurs ne paraît pas nécessaire pour la formation et le développement de ces hyperplasies.

Or, nous avons retrouvé ce conditionnement nécessaire, cette concomitance de plusieurs facteurs, dans le cas des tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale* : la blessure est indispensable, de même que l'insaponifiable de lipide actif.

Si l'on cesse de faire agir ensemble ces deux facteurs, la tumeur ne se forme pas.

Un facteur endogène inconnu, et sans doute différent des auxines, est par ailleurs indispensable, puisque nous savons déjà que ces néoformations ne se produisent pas sur des tiges étiolées, laissées à l'obscurité, qui continuent cependant à fabriquer des auxines.

Les tumeurs médullaires de *Pelargonium* paraissent présenter sur ce point des analogies avec le crown-gall, même si, affectant des tissus différents, leur évolutivité donne à ces réactions un caractère bénin.

Cependant, elles ne sauraient être assimilées aux tumeurs bactériennes tant que le taux du D.N.A. n'y a pas été dosé.

EN CONCLUSION

Les néoformations médullaires et corticales que nous avons décrites peuvent être situées entre les tumeurs bénignes et les tumeurs dites malignes des végétaux.

Morphologiquement, elles se rapprochent des tumeurs bénignes ; sur les plans anatomique, cytologique et physiologique, du crown-gall et des cultures de tissus. Au point de vue étiologique, elles semblent exiger comme le crown-gall une phase de conditionnement.

Ces néoformations ne peuvent être assimilées directement à aucune de ces catégories, auxquelles elles empruntent cependant certains de leurs

caractères. Elles paraissent surtout très voisines de certaines cultures de tissus.

*
* *

B. — PENETRATION DES LIPIDES

Nous rappellerons d'abord brièvement l'existence, déjà établie, dans le cytoplasme et les noyaux de lipides endogènes sous des formes diverses ; puis nous examinerons les problèmes soulevés par la diffusion intratis-sulaire, la pénétration intracytoplasmique et intranucléaire des lipides d'origine étrangère.

1°) Répartition intracellulaire et intranucléaire des lipides endogènes

Il existe dans la plupart des cellules végétales des inclusions grasses d'importance variable selon les familles, les espèces, l'âge des plantes et la nature des tissus. Des travaux nombreux leur ont été consacrés. Dans l'un des plus récents, FL. MURRAY SCOTT (1955) donne des précisions sur leur répartition dans les cellules parenchymateuses de diverses plantes supérieures et décrit l'existence dans le cytoplasme d'un véritable réseau de granulations soudanophiles dont les plastes constituent les centres de rayonnement.

La présence de lipoprotéines dans la membrane ectoplasmique et le tonoplasme est trop connue pour que nous nous y attardions.

L'existence de lipides intranucléaires, directement colorables, sans démasquage préalable, semble n'avoir été signalée jusqu'à présent que par ALBUQUERQUE et SERRA (1951) dans les glandes salivaires de Chironome, par BERG (1951) dans la membrane des noyaux du méristème radiculaire d'*Allium cepa*, par CHAYEN, LA COUR et GAHAN (1957) dans le thymus de veau, les racines de *Vicia faba*, *Trillium grandiflorum* et *Scilla campanulata*. Elle avait été établie, au moyen de techniques d'extraction, en 1939, par STONEBURG, puis par DOUNCE et WILLIAMS, pour différents organes d'animaux, mais les techniques de ces auteurs n'excluaient pas la possibilité d'entraînement de lipides provenant du cytoplasme voisin des noyaux.

Les procédés de démasquage par combinaison des phospholipides avec du chrome (réaction de Smith Dietrich) ou par rupture des chaînes lipoprotéiques (utilisation d'oxydants) devaient apporter une solution à ce problème.

L'emploi de ces réactions a permis à divers auteurs de démontrer que les noyaux des cellules végétales et animales renferment des lipides masqués. ALBUQUERQUE et SERRA (1951) ont obtenu une coloration intense par le Noir Soudan des zones nucléolaires des chromosomes de *Vicia faba* et *Allium cepa*. C. DELAY

(1952) signale la présence de lipides dans le nucléole et l'enchylème de l'oosphère chez *Chara vulgaris*, FAVRE DUCHARTRE (1955) dans le noyau de la cellule centrale de l'archégone chez *Ginkgo biloba*, où il observe des « chromosomes très allongés, entourés de manchons de substances colorables par le Noir Soudan et le Millon Denigès » (après fixation au Helly ou au Regaud).

Des études biochimiques faites sur le noyau hépatique isolé de Souris (ZAJDELA et MORIN, 1952) et de Rats (CHAUVEAU, MOULÉ et ROUILLER, 1957 ; MOULÉ et CHAUVEAU, 1959 ; MOULÉ, 1959) confirment la présence de faibles quantités de phospholipides dont les proportions varient suivant le régime alimentaire.

Par ailleurs, D. ZAGURY (1957) établit « l'existence d'un complexe liporibonucléoprotidique à groupements sulfhydrylés » dans le nucléole, chez *Aggregata*, l'œuf et le foie de Grenouille.

Son étude est complétée par les recherches de S. IDELMAN (1957) précisant la localisation des lipoprotéines sulfhydrylées dans le chromonéma du noyau des glandes salivaires de Chironome, dans les chromosomes des noyaux de testicules chez le Triton et le Criquet, ainsi que dans le méristème radiculaire de la Jacinthe : « Ces corps se retrouvent dans la chromatine du noyau interphasique et jouent certainement un rôle important dans le déroulement de la mitose ».

Le même auteur signale chez *Tradescantia reflexa* (1958), au cours de la méiose, un phragmoplaste nettement lipoprotéique, comme les granulations pectiques de la lamelle moyenne.

Libres ou masqués, des lipides figurent donc dans les noyaux des cellules animales et végétales.

2°) Diffusion des lipides étrangers dans le végétal

Ce phénomène, signalé par SCHMIDT dès 1891, peut être rendu apparent par l'utilisation de graisses colorées.

Le Noir Soudan ne pénètre pas dans les cellules, mais reste confiné dans les espaces intercellulaires, rendant parfaitement visibles les zones de passage ou de localisation des lipides.

La diffusion s'opère essentiellement par les espaces intercellulaires des parenchymes et les vaisseaux du bois. Généralisée et massive près des points d'injection de la graisse ou de l'huile, elle se localise dans les espaces intercellulaires des assises pérимédullaires et du parenchyme cortical interne. Ce phénomène est très général. Nous avons pu l'observer sur des plantes appartenant aux familles les plus diverses. Cette diffusion des lipides étrangers rejoint donc les localisations précédemment signalées pour les lipides endogènes de *Ricinus sanguineus*.

Ces zones de diffusion sont également les mêmes que celles signalées par de nombreux auteurs pour les huiles minérales.

Des études approfondies ont été faites au sujet de la diffusion des huiles minérales dans les plantes ; trois facteurs la commandent : la viscosité de l'huile, les forces capillaires, la formation sous l'effet de ces forces de lames minces entre les parois celluloses.

L'intervention de ces seules forces physiques ne nous paraît pas absolument satisfaisante. En effet, si les lipides ne présentent pas de polarisation

nette dans leur diffusion dans le végétal, certains faits doivent être retenus :

— les lipides diffusent davantage vers l'apex du végétal que vers la base de la tige ;

— ils se localisent électivement sur les méristèmes de tiges et diffusent mal dans les méristèmes radiculaires ;

— ils ne pénètrent pas — ou à peine — dans les massifs libériens.

Ces phénomènes n'avaient pas été signalés pour les huiles minérales qui, amorphes ou toxiques pour la plante, constituent de toute façon des corps étrangers inassimilables.

Par contre, les lipides renferment des acides gras libres et des auxines qui peuvent jouer un rôle actif dans les phénomènes de diffusion. La membrane cellulosique des cellules parenchymateuses n'est pas un simple « papier filtre », mais un élément plastique, susceptible de se modifier aussi bien sous l'effet de substances exogènes ou endogènes, agissant dans les espaces intercellulaires, que des sécrétions internes des cellules.

3°) Pénétration intracellulaire des lipides étrangers

Les rares auteurs qui se sont intéressés à la pénétration intracellulaire des lipides d'origine étrangère n'ont pas signalé d'effets physio-pathologiques.

SCHMIDT, dans son important mémoire sur la perméabilité des cellules végétales aux huiles et aux graisses d'origine étrangère (1891), ne signale aucune répercussion anatomique ou histologique de leur pénétration. Il est vrai que le matériel utilisé — plantules de Pois — ne répondait pas à l'une des exigences que nous avons relevées concernant l'âge des tissus réactifs.

C'est occasionnellement, ainsi que nous l'avons rappelé au début de ce travail, que des chercheurs, ayant réalisé des expériences à l'aide de solvants huileux, ont attribué à ceux-ci certaines des réactions constatées.

Nous savons déjà que les lipides déterminant des hyperplasies parenchymateuses s'introduisent dans les cellules et les noyaux, mais il en est de même pour les lipides dits inactifs, et il convient de se demander avant tout sous quelle forme les lipides franchissent les divers obstacles qui s'opposent à leur pénétration.

a) *Etat des lipides au cours des phénomènes de pénétration*

Pour SCHMIDT, la pénétration intracellulaire d'une huile étrangère dépend de sa teneur en acides gras libres. A l'appui de sa thèse, SCHMIDT citait de nombreuses expériences établissant que l'adjonction d'acides gras à des lipides facilite considérablement leur passage des espaces intercellulaires

vers le cytoplasme. Il en était de même selon lui pour les huiles endogènes qui, à la germination, renferment une forte proportion d'acides gras libres. Cependant, cet auteur devait convenir que les graisses neutres peuvent pénétrer dans les cellules des plantes à réserves oléagineuses « préparées à recevoir et à métaboliser l'huile ».

SCHMIDT était amené à concevoir deux hypothèses :

— les huiles passent sous forme d'émulsions dont les acides gras libres contribuent à accroître la finesse ;

— la graisse émulsionnée contenant des acides gras libres passe sous forme de savons solubles.

SCHMIDT avait déjà remarqué la rétention du colorant par les parois lorsqu'on introduit dans les plantes une graisse préalablement colorée, mais ne put tirer de ce fait aucun renseignement sur l'état de la graisse au moment de son passage dans la cellule (1). Il ajoutait, avant bien d'autres auteurs : « Je crois pouvoir arriver à la conclusion que les acides gras libres servent à la construction de liaisons ressemblant aux savons qui d'un côté servent à l'émulsion de la graisse et d'autre part, une fois qu'ils ont imbibé la membrane cellulaire, rendent celle-ci perméable aux graisses émulsionnées ».

Les nombreuses expériences que nous avons faites confirment :

— la rétention du Noir Soudan par les membranes celluloses dans le cas des graisses colorées préalablement à leur introduction dans le végétal ;

— le passage presque complet des acides gras totaux d'huile d'arachide ou de graisse humaine dans les cellules, l'encombrement des espaces intercellulaires et des méats étant des plus discrets ;

— les difficultés de pénétration des triglycérides qui passent très lentement et très difficilement à travers les filtres de cellulose.

Cependant les recherches que nous avons faites avec M. PAQUOT, par chromatographie de l'extrait éthérosoluble de tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale*, et leur comparaison avec la graisse d'origine, permettent de préciser qu'on retrouve dans les tissus hyperplasiés des graisses de composition peu différente de la graisse d'origine, et non des acides gras.

Cette constatation n'exclut pas la possibilité d'une hydrolyse immédiate des graisses au moment de leur pénétration dans le cytoplasme, suivie d'une estérification, entraînant leur reconstitution sous une forme voisine. Cette hypothèse paraît peu vraisemblable, car les graisses ainsi reformées seraient différentes ; elle ne pourrait cependant être levée qu'après une recherche des lipases *in situ*.

(1) Pour SCHMIDT, le fait que la graisse colorée des espaces intercellulaires est retrouvée non colorée dans les cellules ne prouve ni l'existence d'émulsions, ni un passage mécanique.

b) Perméabilité — Perméation

Quoi qu'il en soit des transformations qu'elles peuvent subir, des fractions huileuses pénètrent dans les cellules et les noyaux.

1. PERMÉABILITÉ DES MEMBRANES CELLULOSIQUES

Il est classique, depuis les travaux de SCHMIDT, d'admettre que les lipides traversent les membranes cellulosesiques.

Les pores de ces membranes sont bien connus. Ils ont fait l'objet d'une étude assez récente de Fl. Murray Scott, qui a décrit en 1956 l'infrastructure de la membrane cellulósique des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*. Les pores et les groupes de pores, déjà visibles au microscope optique, sont admirablement mis en évidence. Leur diamètre est de $1\ \mu$ dans les cellules méristématiques et peut atteindre $2 \times 5\ \mu$ dans les cellules du cylindre central ; à ce moment, ils présentent des recloisonnements cellulósiques d'épaisseur variable.

Les molécules lipidiques traversent ces pores sans difficulté. Ce phénomène de perméabilité banale ne peut être observé isolément que dans les ponctuations cellulósiques des éléments conducteurs (Pl. XIV, fig. 4). Toutes les cellules vivantes, en effet, sont tapissées d'un cytoplasme au niveau duquel perméabilité et perméation vont se compléter pour admettre ou refouler les lipides étrangers.

2. PERMÉABILITÉ ET PERMÉATION DE LA MEMBRANE ECTOPLASMIQUE

Les phénomènes passifs de perméabilité, actifs de perméation, se complètent pour faire de la membrane ectoplasmique un filtre protecteur de la matière vivante.

Depuis que l'infrastructure de l'ectoplasme a été révélée par le microscope électronique, il ne saurait plus être question de considérer le cytoplasme comme un gel dont la structure périphérique répond uniquement à des modifications physiques.

a. Pores de la membrane ectoplasmique

Les recherches récentes de microscopie électronique signalent des invaginations de la « pellicule ectoplasmique » atteignant une profondeur de $1\ \mu$ (BUVAR, 1957). Cette structure facilite l'introduction dans le cytoplasme des substances qui ont déjà franchi les barrières cellulósiques.

β. *Plasmodesmes*

La séparation des cellules végétales, par les cadres cellulotiques qu'elles sécrètent, n'est qu'apparente. On sait depuis longtemps que les cytoplasmes de cellules voisines restent unis par des ponts susceptibles d'assurer leur continuité, les plasmodesmes.

En 1926, G. MANGENOT précisait que les plasmodesmes de cellules voisines, chez les Rhodophycées, s'affrontent sans se confondre, constituant des synapses (1926 *a* et *b*). Cet auteur décrivait ensuite la même structure au niveau des parois transversales criblées du liber (1926 *c*). Ces recherches devaient être poursuivies par M^{lle} CELAN, qui mettait en évidence la nature protéo-lipidique des synapses chez les Algues rouges (1941), et par M^{lle} SALMON chez les Angiospermes (1946).

Ces notions, devenues classiques, ont trouvé leur confirmation dans les travaux de microscopie électronique consacrés, notamment par BUVAT (1957), à l'« infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes ».

L'existence de ces liaisons cytoplasmiques nous permet de mieux comprendre comment les molécules lipidiques peuvent, lorsqu'elles ont été admises dans une cellule, passer directement dans une cellule voisine, alors que les espaces intercellulaires en sont apparemment dépourvus.

γ. *Cénapses lipoprotéiques*

La membrane ectoplasmique est elle-même constituée par des complexes lipoprotéiques, dont le rôle dans la perméation du cytoplasme par des substances d'origine extracellulaire serait essentiel.

Depuis les cénapses du sérum sanguin, mises en évidence par MACHEBŒUF (1928), on a décrit des cénapses avec des nucléoprotéines, avec des phosphoprotéines, avec des protéines sans phosphore.

De nombreux auteurs ont étudié le rôle de ces cénapses qui ont permis de passer du schéma d'OVERTON à celui de DANIELLI, et de la théorie d'OVERTON, fondée sur la solubilité des substances perméantes dans les lipides, à celle de MACHEBŒUF qui repose sur la combinaison de ces substances avec les constituants de la couche superficielle (1).

Les couches limitantes du cytoplasme paraissent jouer un rôle très important dans les phénomènes de pénétration intracellulaire des lipides en protégeant certains groupes cellulaires ou même tissulaires de leur envahissement.

Nous avons signalé que les tissus libériens constituent des îlots non colorables par le Noir Soudan, alors que les tissus voisins sont envahis de

(1) On retrouve en lisant les travaux de MACHEBŒUF des idées assez voisines de celles exprimées par SCHMIDT dès 1891.

lipides. Cette résistance évoque les expériences de MUDD et MUDD sur la pénétration de l'huile, possible dans les érythrocytes, impossible dans les leucocytes (1926 et 1931). Les auteurs expliquent ces réactions différentes par la nature du gel limitant, qualifié de faible ou fluide pour les premiers, et de rigide pour les seconds.

La tension superficielle intervient également : si celle-ci est forte à la surface des cellules parenchymateuses entourées de lipides, elle est sans doute inférieure à la tension interne des cellules libériennes dont le contenu est particulièrement riche en protéines. Il convient de rappeler à ce propos les travaux de CHAMBERS et KOPAC (1937) sur l'œuf nu d'*Arbacia* dont la pellicule externe a été enlevée : ces auteurs démontrent qu'une goutte d'huile, placée en contact de l'œuf dans l'eau de mer, sera, en raison de la tension interfaciale, poussée dans le gel plasmatique. Ce phénomène cesse de se produire si l'eau de mer contient des acides aminés qui s'adsorbent à l'huile et abaissent la tension superficielle.

Dans le cadre de nos expériences, une telle protection paraît s'étendre aux membranes pecto-cellulosiques des cellules libériennes et pourrait être attribuée à la diffusion de la sève élaborée, riche en acides aminés.

Il convient d'être très prudent dans l'interprétation des phénomènes de pénétration intracellulaire des lipides.

Comme l'écrivait DANIELLI (1951) : « On peut seulement conclure que de telles molécules (protéines, stérols, graisses neutres) entrent dans les cellules par des emplacements spécialement différenciés, par des mécanismes spéciaux dont nous sommes ignorants ».

3. PERMÉABILITÉ ET PERMÉATION DE LA MEMBRANE NUCLÉAIRE

La membrane nucléaire est elle-même percée de pores. Ceux-ci constituent des boutonnières où se rejoignent les deux feuillets qui la composent ; leur existence a été établie par les recherches récentes de microscopie électronique.

Le diamètre interne de ces pores varie de 380 Å pour les poils staminaux de *Tradescantia* (DE, 1957) à 1.200 Å chez *Amoeba proteus* (BAIRATI et LEHMANN, 1952). Il permet le passage non seulement des lipides, mais, ainsi que WATSON (1954 et 1955), ANDERSON et BEAMS (1956) l'ont bien précisé, des plus grosses molécules protéiques et nucléiques.

Il convient de mentionner également les recherches de Ch. A. BAUD (1953), GAY (1956), BEAMS, TAHMISIAN, DEVINE et ANDERSON (1957) et enfin de POLICARD et COLLET (1958) qui décrivent chez les noyaux des cellules alvéolaires de Rats des pseudopores fermés par une membrane mince de 50 Å d'épaisseur.

Avant que l'existence de ces pores n'ait été établie par la microscopie électronique, les recherches au microscope optique et les études cytochi-

miques avaient démontré que des molécules importantes traversent la membrane nucléaire (WILSON, 1925 ; SCHRADER et LEUCHTENBERGER, 1952 ; BONHAG, 1955).

La constitution chimique de la membrane nucléaire est très différente de celle de la membrane ectoplasmique ; selon SCHULTZ (1951) la membrane nucléaire, « qui conditionne les réactions nucléo-cytoplasmiques, est elle-même le résultat d'une telle réaction » ; elle pourrait, en conséquence, « être produite par une région chromosomique ou une autre suivant le type de cellule ». Helen GAY, en 1956, a confirmé les vues de SCHULTZ à l'occasion de travaux de microscopie électronique portant sur les noyaux de glandes salivaires chez les larves de *Drosophila melanogaster*.

On a signalé depuis longtemps (EINARSON, 1933 et 1935 ; HYDEN, 1943) que, lorsque le taux des protéines augmente dans certaines cellules, la membrane nucléaire peut devenir épaisse et irrégulière, avec parfois une membrane chromatique sur la face interne, ou de ribose-nucléotide sur la face externe.

Tous ces faits permettent d'envisager que la surface des noyaux est constituée par des complexes où interviennent les acides nucléiques. On doit en conclure que les noyaux sont moins perméables aux lipides que le cytoplasme, et cette conclusion rejoint les observations que nous avons faites au cours de nos recherches.

Cependant, même si les lipides pénètrent dans une bien plus faible proportion dans les noyaux que dans le cytoplasme, nous avons pu remarquer que, d'une manière générale, pénétration intracytoplasmique et pénétration intranucléaire vont de pair.

Même si les cénapses de la membrane nucléaire ne facilitent pas le passage des lipides, ceux-ci, finement émulsionnés dans le cytoplasme, peuvent s'introduire dans les noyaux par les pores. Ils se fixent de préférence sur les chromocentres et l'auréole périnucléolaire. Ils sont plus difficilement mis en évidence dans les nucléoles mêmes où leur passage fugace est en faveur d'une métabolisation ou d'une incorporation aux phospholipides.

En pénétrant ainsi au plus profond de la cellule, certains lipides apportent avec eux une fraction active que l'on retrouve dans leur insaponifiable. Ils lui servent donc de vecteurs et l'amènent au contact des noyaux à un moment où l'équilibre métabolique et enzymatique des cellules est profondément perturbé par le processus de cicatrisation.

Nous devons donc tenter d'examiner maintenant la nature des facteurs actifs qui peuvent ainsi être introduits dans le cytoplasme et les noyaux par certains lipides qu'aucun caractère commun ne relie.

*
* *

C. — NATURE DES FACTEURS ACTIFS

Les lipides humains, animaux et végétaux que nous avons utilisés au cours de nombreuses expériences doivent contenir plusieurs facteurs capables de déterminer des hyperplasies dans les parenchymes blessés.

Nous pensons que le facteur qui détermine la formation de tumeurs médullaires chez le *Pelargonium*, le Ricin et le Tabac n'est pas forcément le même que celui qui provoque les proliférations du parenchyme cortical du Ricin.

Nos recherches établissent en effet que l'insaponifiable exerce avant tout une action qualitative et spécifique : en concentrant un insaponifiable très actif, on obtient une augmentation considérable dans le pourcentage de formation des tumeurs médullaires chez le *Pelargonium*, mais non une réaction des autres tissus.

De même l'insaponifiable d'huile d'arachide, qui est faiblement actif sur la moelle de *Pelargonium*, provoque chez le Ricin d'intenses hyperplasies corticales.

S'agit-il de facteurs différents, ou d'une sensibilité différentielle des parenchymes, variable d'une espèce à l'autre ? Nous ne pouvons encore répondre à cette question. Les expériences que nous avons faites ont permis d'éliminer de très nombreuses substances, notamment les régulateurs de croissance, mais nous n'avons pas abouti à l'identification d'un facteur actif.

Quelques indications, en particulier la comparaison des huiles de pulpe et de grignons d'olive, nous orientent vers la fraction stérolique encore peu étudiée qui figure dans l'insaponifiable des graisses humaines de dépôt, des huiles et des graisses animales et végétales.

La présence d'hormones stéroliques dans les graisses humaines de dépôt est une notion récente. C'est en 1956 que VAGUE et GARRIGUES ont signalé 0,5 à 3 % de stéroïdes divers dans ces graisses, notamment de la déhydroisoandrosterone. Les auteurs insistent sur la nécessité d'interpréter très prudemment le rôle physiologique éventuel « des stéroïdes nombreux et abondants que paraît contenir le tissu adipeux ».

Le rôle des stérols dans la vie végétale est encore inconnu. De très nombreuses expériences faites avec les hormones stéroliques animales chez les végétaux se sont montrées infructueuses. Les rares résultats obtenus peuvent être rattachés aux solvants employés pour leur application aussi bien qu'aux stérols eux-mêmes.

Ainsi que le rappelait NICKELL (1955), aucun effet sur la croissance ne peut être attribué à des stérols végétaux bien connus tels l'ergostérol, le stigmastérol ou le sitostérol. On ne leur connaît pas non plus d'effet tératologique ou hyperplasiant.

Aucun régulateur de croissance n'a pu être rattaché jusqu'à présent à un groupe stérolique.

Des facteurs actifs de type stéroïde restent cependant à découvrir ; leur étude doit aller de pair avec celle de la répartition des lipides endogènes dans les plantules et les plantes adultes chez les végétaux à réserves oléagineuses.

L'existence d'une hormone florigène, mise en évidence par SIRONVAL (1957) dans l'insaponifiable provenant de l'huile des feuilles chez le Fraisier des quatre saisons, vient étayer solidement cette hypothèse.

SIRONVAL a isolé de l'insaponifiable d'huile provenant des limbes deux fractions florigènes :

- une fraction stérolique qui agit seulement à de fortes concentrations ;
- la vitamine E, active à faible concentration.

Nous savons déjà que la vitamine E — apparentée elle-même aux stérols — n'exerce pas d'activité hyperplasiant sur les tiges de *Pelargonium* ou de Ricin, mais provoque seulement l'apparition d'un cambiforme qui isole des tissus sains d'importantes régions nécrosées.

Nous ne savons rien par contre des activités hyperplasiantes éventuelles de l'insaponifiable total et de la fraction stérolique isolés par SIRONVAL. En orientant vers la floraison un bourgeon qui, sans son intervention, serait demeuré végétatif et aurait formé des feuilles, l'extrait insaponifiable agit essentiellement comme un organisateur.

De notre côté, nous n'avons pas recherché si les extraits insaponifiables dont nous avons étudié les effets sur les tiges blessées de certaines plantes étaient susceptibles d'avoir une action florigène.

De nouvelles recherches sont donc indispensables pour tenter d'isoler des lipides dits actifs les facteurs contenus dans l'insaponifiable, dont l'introduction dans les parenchymes blessés entraîne la formation d'hyperplasies spécifiques.

*
* *

D. — CONCLUSIONS

Rien ne nous permet d'affirmer que la fraction active de l'insaponifiable des lipides étrangers introduits dans les Végétaux agit directement sur les parenchymes.

Au contraire, la nécessité d'une blessure et du déclenchement d'un processus cicatriciel permet d'envisager que l'agent tumoral pourrait se constituer dans les noyaux eux-mêmes où certains lipides introduiraient un précurseur inactif.

Le champ est largement ouvert à des recherches orientées vers l'identification de la fraction responsable de ces néoformations, l'étude de ses

propriétés et sa comparaison avec des hormones stéroliques qui pourront être extraites, comme l'a fait SIRONVAL, d'organes végétaux à différents stades physiologiques.

Ces questions sont dominées par le problème cyto-pathologique que pose la pénétration intranucléaire de molécules étrangères à la plante. Il ne s'agit pas là en soi d'un fait nouveau. On sait qu'il existe entre le noyau et le cytoplasme des échanges de substances. Le noyau peut même se trouver parasité par des colonies de Rickettsies (PINKERTON et HASS, 1932) ou des inclusions virales, ainsi qu'il a été établi depuis longtemps chez l'animal.

Si l'on rapproche ces faits de la liposolubilité bien connue de tous les agents cancérogènes d'origine exogène (LACASSAGNE, 1947) et des travaux multiples établissant que les lipides, ou du moins certains d'entre eux, augmentent considérablement le nombre des tumeurs provoquées par de tels agents, on ne manque pas d'être frappé de l'insuffisance des travaux entrepris jusqu'à présent pour tenter de localiser les agents cancérogènes à l'intérieur même des noyaux.

De telles recherches devraient être faites non plus à l'aide de solutions aqueuses, éthérées ou acétoniques de ces corps cancérogènes (GRAFFI, 1943 ; BERG, 1951 ; CHAYEN, LA COUR et GAHAN, 1957), mais en les dissolvant directement dans des supports lipidiques dont les conditions de pénétration intranucléaire auront été préalablement étudiées.

L'étude cyto-physiologique d'un tel problème pourrait, à la lumière des résultats déjà obtenus dans le domaine végétal, enrichir nos connaissances sur le processus de la cancérisation par les substances exogènes.

BIBLIOGRAPHIE

- ACTON (E. H.). — 1889. The assimilation of Carbon by Green Plants from certain Organic compounds. *Proc. Roy. Soc.*, N° 280, 16-5-1889.
- ALBUQUERQUE (R. M.) et SERRA (S. A.). — 1951. Nucleolar composition and the nucleolar zones of the chromosomes. *Portugaliae acta biol.*, sér. A, 1950-53, 187-91.
- ANDERSON (E.) et BEAMS (H. W.). — 1956. Démonstration au microscope électronique du passage de substance à travers les pores de la membrane nucléaire. *J. biophys. biochem. Cytol. U.S.A.*, 2, N° 4, suppl., 439-44.
- ARCHAMBAULT (G.). — 1936. Notes sur le noyau d'*Eranthis hiemalis*. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, II, fasc. 1, 229-240.
- BAILEY (I. W.). — 1930. The cambium and its derivative tissues. *Zeitsch. f. Zellforsch. u. mikr. anat.*, X, 651-681.
- BAIRATI (A.) et LEHMANN (F. E.). — 1952. Ueber die submikroskopische Struktur der Kernmembran bei *Amoeba proteus*. *Experientia*, VIII, 60-1.
- BARKER (W. G.). — 1953. Proliferative capacity of the medullary sheath region in the stem of *Tilia americana*. *Amer. Jour. Bot.*, XL, 773-78.
- BARTHOLEMEW (E. T.). — 1929. Penetration of spray oil into citrus tree tissues. *Calif. Citrogr.*, XIV, 337.
- BAUD (Ch. A.). — 1953. Recherches sur la structure de la membrane nucléaire. *Acta Anat.*, 17, 113-174.
- BEAMS (H. W.), TAHMISIAN (T. N.), DEVINE (R.) et ANDERSON (E.). — 1957. Ultrastructure of the nuclear membrane of a Gregarine parasitic in Grasshoppers. *Experimental Cell Res.*, XIII, 200-4.
- BEHRE (K.). — 1929. Physiologische und zytologische Untersuchungen über Drosera. *Planta*, VII, 208-306.
- BENOIST (E.). — 1936. Recherches caryologiques sur les *Salvia*. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, II, 415-439.
- BERG (W. O.). — 1951. A histological study of masked lipids. Stainability, distribution and functional variation. *Acta pathol. Microb. Scand. suppl.*, XC, 1, 102.
- BERNFELD (M.). — 1943. Recherches sur le cancer des plantes. *Toulouse médical*, nov. 1943.
- 1950 a. Action d'extraits de tissus humains sur la tige de *Pelargonium*. *C. R. Soc. Biol.*, CXLIV, 499-501.
- 1950 b. Action de substances diverses sur la tige de *Pelargonium*. *C. R. Soc. Biol.*, CLXIV, 501-02.
- 1951. Action d'extraits de tissus humains sur la tige de Ricin. *C. R. Soc. Biol.*, CXLV, 635-6.
- 1957 a. Action de lipides exogènes sur la tige de *Pelargonium*. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLIV, 2832-35.
- 1957 b. Effets d'injections de lipides exogènes dans le canal médullaire de Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLIV, 3164-67.
- 1957 c. Réactions provoquées par l'injection de lipides divers dans le canal médullaire de Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLV, 348-50.
- 1961. Répartition des lipides endogènes lors de la germination de *Ricinus sanguineus*. *Rev. de cytol. et Biol. végét.* (sous presse).
- et PAQUOT (C.). — 1958. Effets d'injection d'huile d'arachide dans les canaux médullaires du Ricin. *Oléagineux*, décembre 1958, N° 12, 869-72.

- BERTHELOT (A.) et AMOUREUX (G.). — 1937. Sur la sensibilité des plantules aseptiques à quelques substances carcinogènes. *C. R. Ac. Sc.*, CCIV, 517-19.
- BLOCH (R.). — 1941. Wound healing in higher plants. *Bot. Rev.*, VII, 110-146.
- 1948. The development of the secretory cells of *Ricinus* and the problem of cellular differentiation. *Growth*, XII, 271-84.
- 1952. Wound healing in higher plants. *Bot. Rev.*, XVIII, n° 10, 655-79.
- 1954. Abnormal Plant Growth. *Brookhaven Symposia in Biol.*, N° 6 BNL 258, C 19, 41-54.
- BONHAG (P. F.). — 1955. *J. Morphol.*, LXLVI, 381.
- BRAUN (A. C.). — 1947. Thermal studies on the factors responsible for tumor initiation in crown-gall. *Am. J. Botany*, XXXIV, 234-40.
- 1956. The activation of two growth-substance systems accompanying the conversion of normal to tumor cells in crown-gall. *Cancer Res.*, XVI, 53-56.
- BRAUN (A. C.) et MANDLE (R. J.). — 1948. Studies on the inactivation of the tumor inducing principle in crown-gall. *Growth*, XII, 255-69.
- BUVAT (R.). — 1936. Lipides intravacuolaires dans les méristèmes de certaines racines. *Rev. cyt. et cytophys. végét.*, II, 299-325.
- 1942. Sur l'action d'hydrocarbures cancérogènes sur le tissu libérien de Carotte cultivé *in vitro*. *C. R. Ac. Sc.*, CCXIV, 128-130.
- 1944. Recherches sur la dédifférenciation des cellules végétales. Thèse. Paris 1944; *Ann. des Sc. Nat. Bot.*, 11^e série, T. V et VI.
- 1957. L'infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLV, 198-201.
- BUVAT (R.) et LANCE (A.). — 1957. Configuration submicroscopique de la pellicule ectoplasmique (ou membrane cytoplasmique) de diverses cellules végétales. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLV, 2083-5.
- CALANDRA (E.) et CATTANO (P.). — 1946. Contribucion a l'estudio de la composicion quimica de la grasa humana de deposito. Th., Buenos-Aires 1946; *Rev. Soc. Argentine Biol.*, V, 24, 1948.
- CAMUS (G.). — 1948. Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. Th., Paris 1948; *Rev. cyt. et Biol. végét.*, XI, fasc. I-II, 1949.
- 1958. L'action cancérogène des hormones végétales chez les plantes. *Rev. Path. gén. Physiol. clin. Fr.*, LVIII, n° 699, 1025-9.
- CAPITE (L. de). — 1955. Action of light and temperature on growth of plant tissue cultures *in vitro*. *Amer. Jour. Bot.*, XLII 869-73.
- CASTAN (R.). — 1940. Sur le rôle des hormones animales et végétales dans le développement et l'organogénèse des plantes vasculaires : les organisateurs végétaux. *Rev. Gén. Bot.*, LII, 192, 234, 285, 333.
- CELAN (M^{lle} M.). — 1941. Recherches cytologiques sur les Algues rouges. *Rev. cytol. et cytophysiol. vég.*, V, 1-168, 1941 (Thèse, Paris, 1941).
- CHAMBERS (R.). — 1935. Studies on the physical properties of the plasma membrane. *The Biological Bull.*, LXIX, 331.
- CHAUVEAU (J.), MOULÉ (Y.) et ROUILLER (Ch.). — 1957. Technique d'isolement des noyaux cellulaires basée sur leur densité. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1957, XXIX, n° 12, 1521-33.
- CHAYEN (J.), LA COUR (L. F.), GAHAN (P. B.). — 1957. Uptake of benzopyrene by a chromosomal phospholipid. *Nature G. B.*, CLXXX, n° 4587, 652-3.
- CHOUARD (P.). — 1935. Action de la folliculine et de la thyroxine sur les Reines-Marguerites. *Gynécologie*, XXXIV, 253-57.
- CHRISTIANSEN (G.) et THIMANN (K. V.). — 1950. The metabolism of Stem tissue during Growth and its inhibition I. carbohydrates. *Arch. Biochem.*, XXVI, 230-48.
- CLAUSING (C. A.) et KARSTENS (W. K. H.). — 1955. Observations of the proliferation of stem pith parenchyma *in vitro*. *Acta Bot. Neerl.*, IV, 139-199.
- COLEMAN (L. C.). — 1950. Etat des noyaux dans les tissus normaux des tiges de *Vicia faba*. *Canad. J. Res. Sect. C, Bot.*, XXVIII, 382-90.
- COLLANDER (R.). — 1957. Permeability of Plant cells. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, U.S.A., VIII, 335-48.

- COWDRY (E. V.). — 1934. The problem of intranuclear inclusions in virus diseases. *Arch. Path.*, XVIII, 527-542.
- CUILLÉ (J.) et BLANCHET (B.). — 1958. Les huiles de traitements, leur phytotoxicité. *Fruits*, XIII, N° 2, 53-65.
- CUNY (L.). — 1946. Cours d'arboriculture fruitière. *Jardin du Luxembourg*.
- CURRIER (H. B.) et PEOPLES (S. A.). — 1954. Phytotoxicity of Hydrocarbons. *Hilgardia*, XXIII, 155-173.
- DALLYN (St.). — 1953. Herbicidal action of oils. *Memoir 316, Cornell Univ. Agric. exp. station Ithaca N. Y.*
- DANGEARD (P.). — 1923. Remarques sur l'état de l'huile à l'intérieur des graines oléagineuses. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXVII, 67-69.
- 1934. Sur le bourgeonnement des nucléoles observés chez *Lathraea clandestina* et chez quelques plantes à prochromosomes. *C. R. Ac. Sc.*, CXCVIII, 1627-29.
- DANIELLI (J. F.). — 1951. The cell surface and cell physiology, in : *Cytology and Cell Physiology*, édité par G. H. BOURNE, Oxford, 150-182.
- DAVID (R.). — 1937. Etude expérimentale des effets toxiques de l'urine humaine sur la germination. *Rev. Gén. Bot.*, XLIX, 705.
- DE (D. M.). — 1957. Ultrastructure of nuclear membrane of plant cells. *Experimental Cell Res. U.S.A.*, XII, 1, 181-4.
- DELAY (C.). — 1947. Recherches sur la structure des noyaux quiescents chez les Phanérogames. Th., Paris 1947, *Masson éd.*; *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, 1946-47, 169-233, et 1948, 103-229.
- 1952. Observations cytologiques sur les Characées. III : L'évolution du noyau de l'oosphère et la fécondation chez *Chara vulgaris* L. *Rev. cytol. et Biol. végét.*, XIII, 93-115.
- DERMEN (H.). — 1941. Intranuclear polyploidy in bean induced by naphthalene-acetic acid. *Journ. of Hered.*, XXXII, 133-138.
- DE ROPP (R. S.). — 1948. Tumor formation on stem fragments *in vitro*. *Cancer Res.*, VIII, 519-30.
- DERVICHIAN (D. G.). — 1955. Structure et perméabilité de la membrane cellulaire, in : Problèmes de structures, d'ultrastructures et de fonctions cellulaires. *Masson éd.*, Paris, 103-138.
- DESVEAUX (R.) et KOGANE (Ch.). — 1952. Etude sur la germination de quelques graines oléagineuses. *Ann. I.N.R.A.*, série A ; *Ann. Agron.*, 1952, III, n° 3, 385-416.
- DETMER. — 1880. Keimungsphysiologie.
- DEVAUX (H.). — 1900. Recherches sur les lenticelles. *Ann. des Sc. Nat. Bot.*, XII, Paris.
- DEYSSON (G.). — 1952. Recherches sur la perméabilité des cellules végétales. *Rev. Cytol. et Biol. végét.*, XIII, fasc. 3-4, 153-315.
- DOP (P.) et GAUTHIER. — 1928. Manuel de technique botanique. *Lamarre éd.*, Paris.
- DOUNCE (A. L.). — 1943. Further studies on isolated cell nuclei of normal rat livers. *J. Biol. Chem.*, CLI, 221-33.
- DUVAL (G.). — 1944. Culture des arbres fruitiers ; T. II : cultures spéciales.
- ECKEY (E. W.). — 1954. Vegetable fats and oils. *Reinhold Publishing Corp.*, New-York.
- ECKSTEIN (H. C.). — 1925. The fatty acids in the subcutaneous fat of man. *J. of Biol. Chem.*, LXIV, 797-806.
- EICHORN (A.). — 1938. Etude caryologique de trois espèces d'Acacia. *Rev. cyt. et cytophys. végét.*, III, 54-62.
- EINARSON (L.). — 1933. Notes on the morphology of the chromophil material of nerve cells and its relation to nuclear substances. *The amer. J. of Anatomy*, LIII, 141-168.
- FAVRE-DUCHARTRE (M.). — 1955. Contribution à l'étude de la reproduction chez le *Ginkgo biloba*. Th., Paris, 1956 ; *Rev. Cyt. biol. végét.*, XVII, Fasc. 1-2.
- FISCHER (H.). — 1934. Grossenänderungen von Kern und Nucleolus im Blattgewebe. *Planta*, XXII, 767-93.
- FOURCROY (M.). — 1937. Influence de divers traumatismes sur la structure des organes végétaux à évolution vasculaire complète. Th., Paris.

- FUHRMANN (R.). — 1954. Contribution à l'étude des huiles de grignons d'olive de Tunisie. *Journal de Recherches du Centre National de la Recherche Scientifique*, 325.
- GALINSKY (I.). — 1949. The effect of certain phosphates on mitosis in *Allium* roots. *Jour. of Hered.*, XL, N° 11, 289-96.
- GARNIER (G.). — 1934. Influence de l'étiement sur les cellules végétales. *Rev. Gén. Bot. Fr.*, XLVI, 332, 420, 506, 562, 604, 688, 735.
- GARRIGUES (R.). — 1939. Action de la colchicine et du chloral sur la racine de *Vicia faba*. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, 1939-40, 262-301.
- 1941. Action de quelques substances huileuses sur les racines de *Pisum sativum*. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXV, 1065-68.
- 1944. Action des carbures cancérigènes sur les végétaux. *Bull. Assoc. fr. pour l'étude du cancer*, 1944-45, XXXII, 131-144.
- 1950. Sur un type particulier de noyau trouvé dans des Hyménoptéroécidies. *C. R. Ac. Sc.*, CCXXXI, 984-6.
- 1950. Les atypies mitotiques dans les tumeurs à *Phytomonas tumefaciens*. *C. R. Soc. Biol.*, CXLIV, 1457.
- 1951. Recherches sur les cécidies, le cancer et l'action des carbures cancérigènes sur les végétaux. *Th.*, Lyon.
- GAUCHER (L.). — 1902. Recherches anatomiques sur les Euphorbiacées. *Th.*, Paris, Masson éd.; *Ann. Sc. Nat. Bot.* 8° S., XV, 161-309.
- GAUTHERET (R. J.). — 1942. Recherches sur le développement de fragments de tissus végétaux cultivés in vitro. *Rev. cytol. et cytophysiol. vég.*, VI, 87-180.
- 1959. La culture des tissus végétaux. Masson éd., Paris.
- GAVAUDAN (P. et N.). — 1938. Mécanisme d'action de la colchicine sur la caryocinèse des végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, CXXVIII, 714-16.
- 1939 a. Sur les anomalies de la caryocinèse et de la cytodierèse provoquées par l' α -chloronaphtalène et le P-Dichlorobenzène. *C. R. Soc. Biol.*, CXXX, 1443-46.
- GAVAUDAN (P.), GAVAUDAN (N.) et DURAND (J. F.). — 1939 b. Sur les anomalies de la caryocinèse et de la cytodierèse provoquées par le naphthalène et les α -naphtyle-éthers. *C. R. Soc. Biol.*, CXXX, 1234-37.
- GAY (M.). — 1956. Relations entre chromosomes, membrane nucléaire et cytoplasme chez les Drosophiles. *J. biophys. biochem. Cytol. U.S.A.*, II, n° 4, suppl., 407-14.
- GELLHORN (E.) et RÉGNIER (J.). — 1936. La perméabilité en physiologie et en pathologie générale. Masson éd., Paris.
- GENEVES (J.-L.). — 1955. Recherches sur les effets cytologiques du froid. *Th.*, Paris 1955; *Rev. Cytol. Paris*, XVI, 1955, 1-208.
- GINSBURG (J. M.). — 1930. Studies on penetration of oils in plant tissues. *N. J. Agric. Station Report*, LI, 163-67.
- 1931. Penetration of petroleum oils into plant tissues. *J. Agric. Res.*, XLIII, 469-74.
- GOLDSTEIN (B.). — 1928. Nucleolar form as related to functional activities of normal and pathological cells. *Bot. Gaz.*, 86, 365-83.
- GRAFFI (A.). — 1942. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Mäusen haut nach Pinselung mit Benzpyren Benzollösung. *Ztschr. f. Krebsfors.*, LII, 165.
- 1943. Zur unterschiedlichen Reaktionsweise der Ratten und Mäusen haut gegenüber Benzpyren. *Ztschr. f. Krebsfors.*, LIV, 254.
- GREENLAF (W. H.). — 1938. Induction of polyploidy in *Nicotiana* by heteroauxin treatment. *J. of Heredity*, XXIX, 451-64.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — 1933. Traité de cytologie végétale. Le François éd., Paris.
- GUYOT (H.) et CUILLE (J.). — 1955. Les traitements fongicides des bananeraies. II : Efficacité des différents modes de traitements, Rôle de l'huile. *Fruits*, X, n° 3, 101-107.
- HACKETT et SCHNEIDERMAN. — 1953. *Arch. biochem. biophysic.*, XLVII, 190.
- HAMEL (J.). — 1936. Etudes caryologiques sur quelques Bégoniacées. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, II, 392-413.

- HAVAS (L.). — 1937. Carcinomata and vegetal hormones. *Nature*, CXL, 191.
- HAVIS (J. R.). — 1950. Herbicidal properties of Petroleum Hydrocarbons. *Memoir 298, Cornell Univ. Agric. Exp. Station Ithaca, N.-Y.*
- HILDITCH (T. P.). — 1949. The chemical Constitution of Natural Fats. *John Wiley and Sons, New-York.*
- HOFFMANN (W.). — 1934. Essai de diagnostic biologique de la grossesse par l'urine. *Deutsche Mediz. Woch.*, XL, n° 22.
- HOFMEISTER (W.). — 1867. Die Lehre von der Pflanzenzelle.
- HOUGET (J.). — 1942 a. Sur les formations des glucides au cours de la germination du Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, CCXV, 387-388.
- 1942 b. La transformation des lipides en glucides lors de la germination du Ricin. Mécanisme de l'attaque des acides gras. *Bull. Soc. Chim. Biol. Paris*, XXIV, 346-52.
- 1942 c. La transformation des lipides en glucides lors de la germination du Ricin. La formation des glucides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, XXIV, 352-7.
- HYDEN (H.). — 1934. Protein metabolism in the nerve cell during growth and function. *Acta physiol. scand.*, VI, suppl. 17.
- IDELMAN (S.). — 1957. Existence d'un complexe lipides-nucléoprotéines à groupements sulfhydrilés au niveau du chromosome. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLIV, 1827-28.
- 1958 a. Localisation du complexe lipides-protéines à groupements sulfhydrilés au sein du chromosome. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLVI, 1098-1100.
- 1958 b. Les lipides et les groupements sulfhydrilés liés aux protéines au cours de la méiose de *Tradescantia reflexa*. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLVI, 3499-3501.
- JABLONSKI (J. R.) et SKOOG (F.). — 1954. Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. *Physiol. Plant.*, VII, 16-24.
- JAMIESON (G. S.). — 1943. Vegetable Fats and Oils. *Reinhold Publishing Corp.*, New-York.
- KELLEY (V. W.). — 1930 a. Effect of certain hydrocarbon oils on the transpiration rates of some deciduous fruits. *Univ. of Illinois Agric. exp. station, Bull. N° 353*, 581-600.
- 1930 b. Effect of certain hydrocarbon oils on respiration of foliage and dormant twigs of the apple. *Univ. of Illinois Agric. exp. station, Bull. N° 348*, 370-406.
- KISSER (J.). — 1939. Ueber die Wirkungen carcinogener Substanzen bei Pflanzen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, LVII, 506-15.
- KLEIN (R. M.). — 1953. The probable chemical nature of crown-gall tumor inducing principle. *Am. J. Botany*, XL, 597-99.
- 1954. Mechanisms of crown-gall induction. *Brookhaven Symposia in Biology*, n° 6, 97-114.
- et LINK (G. K. K.). — 1952. Auxin as a promoting agent in the transformation of normal to tumor cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, XXXVIII, 1066-72.
- et KNUPP (J.). — 1953. Wounding in relation to the formation of crown-gall tumor cells (in manuscript), cité par KLEIN (R. M.), in : Mechanisms of crown-gall induction. *Abnormal and Pathological Plant Growth Symposium 3-5 août 1953*, Biology Department, Brookhaven National Laboratory, New-York, 97-114.
- et TENENBAUM (I. L.). — 1955. A quantitative bioassay for crown-gall tumor formation. *Am. J. Botany*, XLII, 709-12.
- KNIGHT (H.), CHAMBERLIN (J. C.) et SAMUELS (Chas. D.). — 1929. On some limiting factors in the use of saturated petroleum oils as insecticides. *Plant Physiol.*, IV, n° 3, pp. 299-321.
- KOPAC et CHAMBERS. — 1937. The coalescence of living cells with oil drops. *J. cell. comp. Physiol.*, IX, 331-345.
- KOSTOFF (D.). — 1934. Tumor problem in the light of researches on plant tumors and galls, and its relation to the problem of mutation. *Protoplasma*, XX, 440-56.

- KOSTOFF (D.) et KENDALL (J.). — 1933. Studies on plant tumors and polyploidy produced by Bacteria and other agents. *Arch. f. Mikrobiol.*, IV, 487-508.
- LACASSAGNE (A.). — 1947. Etude de la cancérisation par les substances chimiques exogènes. *Hermann éd.*, Paris.
- LA COUR (L. F.), CHAYEN (J.) et GAHAN (P. S.). — 1958. Evidence for lipid material in chromosomes. *Exper. Cell. Res. U.S.A.*, XIV, n° 3, 469-85.
- LAURENT (E.). — 1888. Recherches expérimentales sur la formation de l'amidon dans les plantes aux dépens de solutions organiques. Bruxelles.
- LAURENT (J.). — 1904. Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques. *Rev. Gén. Bot.*, XVI, 14, 66, 96, 155, 188, 231.
- 1913. Du rôle de la glycérine dans les anomalies de structure qu'elle provoque chez le *Pisum sativum*. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, LX, 592-601.
- LE BRETON (E.) et FERRET (S.). — 1959. Quelques aspects actuels du problème des acides gras indispensables et essentiels, in : Exposés annuels de biochimie médicale, *Masson éd.*, 135-168.
- LECLERC DU SABLON. — 1893. Sur la germination du Ricin. *C. R. Ac. Sc.*, 524.
- LENDSTROM et KROSS. — 1931. Cytogenetic investigations of a haploid tomato and its diploid and tetraploid progeny. *Am. J. of Bot.*, XVIII, 398-410.
- LEROUX (R.). — 1953. Action des hétéroauxines désherbantes sur la Nielle des blés (*Agrostemma githago* L.). *C. R. Soc. Biol.*, CXLVII, 1189.
- LEVAN (A.) et LOFTY (T.). — 1949. Naphtalene acetic acid in the Allium test. *Hereditas*, XXXV, 337-74.
- LEVINE (M.). — 1931. Studies in the Cytology of Cancer. *Am. Jour. of cancer*, XV, 144-211, 788-834 et 1410-94.
- 1934. A preliminary report on plants treated with the carcinogenic agents of animals. *Bull. Torrey Bot. Club*, LXI, 219-39.
- 1936. The response of plants to localized applications of various chemical agents. *Bull. Torrey Bot. Club*, LXIII, 177-99.
- et CHARGAFF (E.). — 1937. The response of plants to chemical fractions of *B. tumefaciens*. *Am. Jour. of Bot.*, XXIV, 461-71.
- LISON (L.). — 1953. Histochimie et cytochimie animales. *Gauthier-Villars éd.*, Paris.
- LÖVE (A. et D.). — 1945. Experiments on the effects of Animal sex hormones on dioecious Plants. *Arkiv f. Bot.*, XXXII, 1-60.
- LUCAS (A. M.). — 1936. Ultracentrifugation of intranuclear inclusions in the submaxillary glands of guinea pigs and ground moles. *Amer. J. Pathol.*, XII, 933-947.
- LUSTIG (B.) et WACHTEL (H.). — 1938. *Biochem. Zeitschr.*, CCXCVII, 386.
- 1939 a. Action d'extraits d'organes des animaux sur la germination des plantes. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXII, 224-27.
- 1939 b. Action d'extraits d'organes animaux sur la croissance des plantes germées. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXII, 227-30.
- 1939 c. Action d'extraits de tumeurs bénignes et malignes sur la germination et la croissance des plantes. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXII, 246-49.
- MACHEBŒUF (M.-A.). — 1928. Recherches sur les lipides, les stérols et les protéides du sérum et du plasma sanguins. Laval, *impr. Barnéoud*, 1928. Thèse Doctorat ès Sciences.
- 1949. Les cénapses lipoprotéiques du plasma sanguin. *Les Lipides, Colloque international du C.N.R.S.*, Paris, 5-12 janvier 1948, 137-156.
- MAGNUS (W.). — 1914. Die Entstehung der Pflanzengallen verursacht durch Hymenoptere. *Iena*.
- MALVESIN-FABRE (G.) et EYMÉ. — 1950. Le noyau des cellules à mycorhizes chez *Limodorum abortivum* et son amitose. *Rev. Gén. de Bot.*, LVII, 672-92.
- MANGENOT (G.). — 1926 a. Sur l'existence d'un dispositif fonctionnel remarquable dans les orifices des cribles libériens. *C. R. Ac. Sc.*, CXCII, 860.
- 1926 b. Communications intercellulaires et synapses. Notes d'Histologie végétale. *Bull. d'Hist. appliquée*, III, 18 p.
- 1926 c. Sur l'existence d'un dispositif fonctionnel remarquable dans les orifices des cribles libériens. *C. R. Ac. des Sc.*, CXCII, 860.

- 1938. Sur les oosphères, les tubes polliniques et la fécondation chez le Pin maritime. *C. R. Ac. Sc.*, CCVI, 364.
- 1942. Recherches sur l'action des substances mitoclasiques. Action de la colchicine sur les racines d'*Allium cepa*. *Actualités scientif. Hermann*, 120 p.
- MANIL (P.) et STRASZEWSKA (Z.). — 1950. Action négative des produits cancérogènes sur les végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, CXLIV, 454-6.
- MARQUARDT (H.). — 1937. Die Röntgenpathologie der Mitose. I : Der Primäreffekt weicher Röntgenstrahlen auf die Mitose von *Scilla campanulata*. *Ztsch. f. Bot.*, XXXII, 400-82.
- MASCRÉ (M.). — 1958. Physiologie et Biologie des Plantes vasculaires. *Ed. S.E.D.E.S.*, Paris.
- MASSON (J.). — 1958. La sécrétion nucléolaire des chromosomes géants chez le Chironome. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLVI, 3108-10.
- MEYER (J.). — 1948. Observation sur les premiers effets cytologiques de la cécidogénèse chez deux cécidomyides. *Rev. Gén. Bot.*, LV, 256-80.
- 1950. Gigantisme nucléolaire et cécidogénèse. *C. R. Ac. Sc.*, CCXXXI, 1333-35.
- MINSHALL (W. H.) et HELSON (V. A.). — 1949. Some effects of herbicidal oils on the physiology of plants. *Contrib. 972, Div. Bot. and Plant Path. Sci. Serv. Dominion Dept. Agr. Ottawa, Canada*.
- MOL (E. de). — 1928. Nucleolar number and size in diploid, triploid and aneuploid hyacinths. *Cellule*, XXXVIII, 5.
- MOLISCH (H.). — 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie. *Jena*.
- MOLLIARD (M.). — 1907. Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs. *Rev. Gén. Bot.*, XIX, 242, 329, 357.
- MOREL (G.). — 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Thèse, Paris et Ann. Epiphyt.*, N. S., XIV, 123-234.
- MOULÉ (Y.). — 1959. Composition des noyaux de foie de Rat en fonction des différentes conditions nutritionnelles. *Arch. Sc. physiol.*, XIII, 379-386.
- MOULÉ (Y.) et CHAUVEAU (J.). — 1959. Recherches biochimiques et enzymologiques sur les noyaux isolés de foie de Rat. *Exp. Cell Research suppl.* 7, 156-168.
- MUDD (S.) et MUDD (E.). — 1925. On the surface composition of normal and sensitized mammalian blood cells. *J. exp. Med.*, XLIII, 127-142.
- 1931. The deformability and the wetting properties of Leucocytes and Erythrocytes. *J. gen. Physiol.*, XIV, 733-751.
- NICKELL (Louis G.). — 1955. Effects of Antigrowth Substances in normal and Atypical Plant Growth. *Antimetabolites and Cancer. Am. Ass. f. the Adv. of Science*, 129-151.
- NOEL (Christiane). — 1946. Recherches sur l'anatomie du crown-gall. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 11^e S., VII, 87-144.
- NYSTERAKIS (F.). — 1954. Des cultures de tissus à l'étude des extraits naturels d'origine animale sur les Végétaux. *Union int. des Sc. Biol.*, 1^{er} colloque int., Briançon, 14-21-7-54, in : *Physiologie des cultures de tissus végétaux*, 1955, 185-192.
- PATTY (F. A.). — 1930. Some experiments with crown-gall bacteria (abstract). *Phytopathology*, XX, 85 b.
- PFEFFER (W.). — 1904. Physiologie végétale. Etude des échanges de substances et d'énergie dans la plante. T. I^{er}, fasc. 1, 88-90.
- PINKERTON (H.) et HASS (G. M.). — 1932. Further observations on the behaviour of *Rickettsia prowazeki* in tissue cultures. *J. exp. Med.*, LVI, 131-143.
- 1932. Intranuclear *Rickettsiae* in spotted Fever studied in tissue culture. *J. exp. Med.*, LVI, 151-156.
- PLANES (M.). — 1959. Action spécifique des graisses alimentaires sur la croissance. *Thèse médecine, Paris*.
- POLICARD (A.) et COLLET (A.). — 1958. A propos du problème des pores nucléaires. *Bull. Micr. Appl. Fr.*, VIII, n° 3, 74-5.
- PUISEUX-DAO (S.). — 1958. A propos du comportement du noyau chez *Batophora Oerstedii*. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLVI, 2286-88.

- REILHES (R.). — 1936. Stérides et phospholipides dans le système vacuolaire de la cellule végétale. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, II, fasc. 1, 97-210.
- REHWALD (C.). — 1927 a. Ueber pflanzliche Tumoren als vermeintliche Wirkung chemischer Reize. *Zeitschr. Pflzkrank. Pflanzschutz.*, XXXVII, 65-86.
- 1927 b. Einige Beobachtungen ueber Tumoren ähnliche Neubildungen bei Pflanzen. *Zeitschr. Krebsforsch.*, XXV, 247-48.
- RIKER (A. J.). — 1923. Some relations of crown-gall organism to its host tissue. *J. Agr. Res.*, XXV, 119-132.
- ROHRBAUGH (P. W.). — 1934. Penetration and accumulation of petroleum spray oils in the leaves, twigs and fruit of citrus trees. *Plant Physiol.*, IX, 699-730.
- ROSE (M.) et HAMON (M.). — 1939. Action du benzoate d'oestradiol injecté en solution huileuse sur la racine de Pois cultivé. *C. R. Soc. Biol.*, CXXX, 1314-16.
- RYBAK (B.). — 1948. Le pouvoir pathogène de *Phytomonas tumefaciens*. *Rev. Path. végét. ent. agr. de France*, XXVII, fasc. 3.
- SACHS. — 1863. *Pringsheim's Jahrb.*
- SALMON (J.). — 1946. Différenciation des tubes criblés chez les Angiospermes. *Rev. cytol. et cytophysiol. végét.*, 1946-47, IX, 55-168.
- SCHMIDT (R. H.). — 1891. Ueber Aufnahme und Verarbeitung von fetten Oelen durch Pflanzen. *Flora*, LXXIV, 300-70.
- SCHRADER (F.) et LEUCHTENBERGER (C.). — 1952. The origin of certain nutritive substances in the eggs of Hemiptera. *Exp. Cell Research*, III, 136.
- SCHULTZ (J.). — 1952. Interrelations between nucleus and cytoplasm : Problems at the biological level. *Exp. Cell Research*, suppl. II, 17.
- SCOTT (Fl. M.). — 1955. The distribution and physical appearance of fats in living cells. *Am. J. Bot.*, XLII, 475-80.
- SCOTT (Fl. M.), HAMNER (K. C.), BAJER (E.) et BOWLER (E.). — 1956. Electron microscope studies of cell wall growth in the Onion root. *Amer. J. Bot.*, XLIII, 313-324.
- SENTEIN (P.). — 1941. L'action des toxiques sur la cellule en division. Effets de la colchicine et du chloral sur les mitoses de tissus normaux et sur quelques tumeurs malignes. *Trav. du Centre Anticanc. de Montpellier*.
- SIRONVAL (C.). — 1957. La Photopériode et la sexualisation du Fraisier des quatre saisons à fruits rouges (métabolisme chlorophyllien et hormone florigène). *Arch. Inst. Bot. Univ. de Liège*, Vol. XXV, 1957-58, 7-229.
- SKOOG (F.) et MILLER (C. O.). — 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exper. Biol.*, n° 11, *The Biological Action of Growth substances*, 118-131.
- SMEDELEY-MCLEAN (I.) et NUNN (Ch. A.). — 1940. Fat deficiency disease of Rats. The effects of doses of methyl arachidonate and linoleate on fat metabolism, with a note on the estimation of arachidonic acid. *Biochem. J.*, XXXIV, 884-902.
- STEIN (E.). — 1942. Cytologische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* mut. cancrioida. *Chromosoma*, II-III, 308-333.
- STOKLASA (J.). — 1895. Ueber die Verbreitung und physiologische Bedeutung des Lecithins in der Pflanze. *Sitz. der Kais. Akad. der Wissenschaft in Wien math. nat. Klasse*, 1895-1896, 712-723.
- STONEBURG (C. A.). — 1939. Lipids of the cell nuclei. *J. Biol. Chem.*, CXXIX, 189-96.
- STOWE (B. B.). — 1958. Growth promotion in Pea epicotyl section by fatty acid esters. *Science*, CXXVIII, 421-23.
- 1959. Similar activating effects of Lipids on cytochroms and on Plant hormones. *Biochem. and Biophys. Res. Comm.*, Aug. 59, I, n° 2, 86-90.
- SUIT (R. F.) et HARDLEY (E. A.). — 1935. Secondary tumor formation in herbaceous hosts induced by *Pseudomonas tumef.* *Sci. Agr.*, XV, 345-57.
- THOMAS (P.). — 1936. Manuel de Biochimie. *Masson éd.*, Paris.
- TURIAN (G.). — 1958. Recherches anatomo-physiologiques sur les cécidies. *Rev. Gén. Bot.*, LXV, 279-94.
- TURRELL (F. M.). — 1947. Citrus leaf stomata : structure, composition, and pore size in relation to penetration of liquids. *Bot. Gaz.*, CVIII, 476-483.

- ULRICH (R.). — 1936. Réactions des fruits aux blessures expérimentales. *Rev. Gén. Bot.*, XLVIII et 1937, XLIX.
- 1943. Les réactions des végétaux supérieurs aux excitations traumatiques. *Rev. scientifique*, Paris, LXXIX, 293-301.
- VAGUE (J.) et GARRIGUES (J. C.). — 1955. Recherches sur la composition du tissu adipeux humain, et notamment sa teneur en stéroïdes. *Ann. d'Endocrinologie*, XVI, n° 5, 805-10.
- 1956. Mise en évidence de stéroïdes dans le tissu adipeux humain. *Folia Endocrinologica*, IX, fasc. 3, 299-312.
- VAN TIEGHEM (Ph.). — 1881. Recherches sur la vie dans l'huile. *Bull. Soc. Bot. de Fr.*, XXVIII, 137-142.
- WACHTEL (H.). — 1947. Action du sérum humain sur la croissance des plantes (angl.). *Arch. of Biochem.*, XIV, nos 1 et 2.
- WATSON (M. L.). — 1954. Pores in the mammalian nuclear membrane. *Bioch. Biophys. Acta*, XV, 475-79.
- 1955. L'enveloppe nucléaire. Sa structure et ses rapports avec les membranes cytoplasmiques. *J. biophys. biochem. Cytol. U.S.A.*, I, n° 3, 257-70.
- WEHNELT (B.). — 1927. Untersuchungen über das Wundhormon der Pflanzen. *Jahrbücher f. wissenschaft. Bot.*, LXVI, 773-813.
- WETMORE (R. H.) et SOROKIN (S.). — 1955. On the differentiation of xylem. *Jour. Arnold Arboretum*, XXXVI, 305-17.
- WIELER (A.). — 1889. Ueber Anlage und Ausbildung von Librifasern in Abhängigkeit von äusseren Verhältnissen. *Bot. Zeitung*, 47^e année, n° 34.
- WILLIAMS (H. H.), KAUCHER (M.), RICHARDS (A. J.), MAYER (E. Z.) et SHARPLESS (G.). — 1945. The lipid partition of isolated cell nuclei of dog and rat livers. *J. Biol. Chem.*, CLX, 227-32.
- WILSON (E. B.). — 1925. The Cell in Development and Heredity. *The Macmillan Co*, New-York.
- WINGE (O.). — 1927. Zytologische Untersuchungen ueber die Naturmaligner Tumoren. I : « Crown-gall » der Zuckerrübe. *Ztschr. f. Zellforsch.*, VI, 397.
- WITHROW (R. B.) et HOWLETT (F. S.). — 1946. New carriers for Plant growth regulators. *Plant Physiology*, XXI, n° 2, 115-129.
- YOUNG (P. A.). — 1935. Distribution and effect of petroleum oils and kerosenes in potato, cucumber, turnip, barley, and onions. *J. Agric. Res.*, LI, 925-934.
- ZAGURY (D.). — 1957. Existence d'un complexe liporibonucléoprotéidique à groupements sulfhydrylés au sein du nucléole. *C. R. Ac. Sc.*, CCXLIV, n° 13, 1825-27.
- ZAJDELA (F.) et MORIN (G. A.). — 1952. Etude cytologique et histochimique du noyau hépatique de souris isolé. *Rev. d'hématologie*, VII, n° 4, 628-51.

LEGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

Aspects morphologiques des réactions chez *Pelargonium zonale* et *Ricinus sanguineus*.

- Fig. 1. — *P. zonale*. Plante témoin : piqûres suivies d'adjonctions d'huile de coton inactive ; au 15^e jour les orifices de blessure ne sont pas modifiés et sont simplement obstrués par un tissu cicatriciel.
- Fig. 2. — *P. zonale*. Début de formation de la tumeur médullaire avec allongement des orifices de blessure dans le sens axial et écartement des lèvres de la blessure ; réaction provoquée par un insaponifiable de graisse d'épithélioma mammaire dissous dans l'huile de coton, 10^e jour.
- Fig. 3. — *P. zonale*. Id. fig. 2, mais au 15^e jour, la fente s'est allongée sous l'effet de la pression exercée par l'hyperplasie médullaire sous-jacente.
- Fig. 4. — *P. zonale*. Au 20^e jour, réaction provoquée par une graisse d'épithélioma mammaire pure.
- Fig. 5. — *P. zonale*. Au 30^e jour, action d'une graisse abdominale humaine ; la moelle hyperplasiée constitue une saillie centrale.
- Fig. 6. — *P. zonale*. Au 40^e jour, action d'une graisse abdominale humaine ; la moelle hyperplasiée remplit complètement la région libérée par l'écartement des tissus externes.
- Fig. 7. — *P. zonale*. Tumeur médullaire au 15^e mois ; on note l'importance de cette réaction et la nécrose superficielle de certaines zones.
- Fig. 8. — *P. zonale*. Tumeur médullaire au 50^e jour, coupée longitudinalement dans un bloc de paraffine, le tissu médullaire hyperplasié se dessine nettement, plus clair que les tissus normaux.
- Fig. 9. — *P. zonale*. Id. fig. 8 mais en coupe transversale.
- Fig. 10. — *P. zonale*. Tumeurs médullaires provoquées par une huile de maïs brute, 41^e jour.
- Fig. 11. — *R. sanguineus*. Applications externes de graisse d'épithélioma mammaire, 50^e jour ; le tissu néoformé a comblé la cavité centrale.
- Fig. 12. — *R. sanguineus*. Id. fig. 11, mais au 153^e jour ; le tissu néoformé a comblé la cavité centrale sur 2,5 cm environ.
- Fig. 13. — *P. zonale*. Action de l'acide naphthalène acétique à 0,5 % dans la lanoline ; formation d'un massif tumoral composé d'un bloc serré de racines. 32^e jour.
- Fig. 14. — *P. zonale*. Id. mais la tige de la plante a été placée au 21^e jour sur de l'eau ; les racines se sont développées ; la photographie a été prise au 32^e jour, comme dans le cas de la fig. 13.

PLANCHE II

Aspects morphologiques des réactions provoquées sur la tige de *Ricinus sanguineus* par des injections de lipides.

- Fig. 1. — Injection de graisse d'épithélioma mammaire, 30^e jour. Les verrucosités sont apparues non seulement sur l'entrenœud qui a reçu l'injection, mais également sur l'entrenœud sous-apical, le bourgeon terminal et la base d'un pétiole.
- Fig. 2. — Id. au 50^e jour ; arrêt complet de la croissance de la plante dont les sommités caulinaires sont couvertes de verrucosités.
- Fig. 3. — Id. au 60^e jour ; des verrucosités voisines ont conflué ; elles recouvrent les nœuds et ressemblent nettement à des lenticelles.
- Fig. 4. — Id. au 9^e mois ; on note les modifications importantes subies par la tige surtout au niveau des nœuds ; la tige est recouverte d'un véritable réseau alvéolé provenant de l'étalement des verrucosités.

Fig. 5. — Id. 36^e jour, envahissement par les lipides de l'entrenœud sous-apical et de l'apex, couverts de verrucosités.

Fig. 6. — Injection d'acides gras totaux de graisse mammaire humaine, au 70^e jour ; pas de verrucosités externes. On observe une simple cicatrisation incomplète (certains orifices sont encore obstrués par les acides gras), avec nécroses très localisées.

Fig. 7. — Injection de graisse abdominale humaine, suivie, au 4^e jour, d'inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* virulent. Photographie prise au 87^e jour. On constate que, si des verrucosités nombreuses sont apparues, aucune réaction ne s'est produite aux points d'inoculation de la bactérie, à la partie médiane de l'entrenœud.

PLANCHE III

Aspect anatomique des tumeurs médullaires. Comparaison avec le crown-gall.

Fig. 1. — Coupe longitudinale dans une tumeur médullaire provoquée sur *P. zonale* par une graisse mammaire ; au 30^e jour.

Fig. 2. — Coupe longitudinale dans un entrenœud de *P. zonale* ayant subi des inoculations d'*Agrobacterium tumefaciens* ; les recloisonnements médullaires sont localisés autour des points d'inoculation ; la tumeur se constitue essentiellement aux dépens du cambium. 30^e jour.

PLANCHE IV

Anatomie des tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale* ; coupes longitudinales.

Fig. 1. — Tumeur médullaire provoquée par la fraction insaponifiable de graisse abdominale humaine au 31^e jour. Des cellules normales ou hypertrophiées se trouvent englobées dans la masse du parenchyme hyperplasié.

Fig. 2. — Extrémité axiale de la tumeur précédente. On distingue dans le parenchyme non encore recloisonné des cellules hypertrophiées, que l'on peut comparer aux cellules normales situées au bas de l'image.

PLANCHE V

Anatomie des tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale* ; coupes transversales au 46^e jour ; action d'un extrait lipidique total d'épithélioma mammaire.

Fig. 1. — Coupe au niveau de l'extrémité axiale de la tumeur, vers l'apex : on distingue une zone plus sombre dans le secteur supérieur de la moelle, correspondant aux recloisonnements.

Fig. 2. — Coupe dans une région plus proche du centre de la tumeur ; le tissu hyperplasié se distingue nettement du parenchyme médullaire normal.

Fig. 3. — Coupe dans la zone centrale de la tumeur ; on note, à côté de l'importante réaction de la moelle, nettement délimitée, une réaction secondaire qui s'est formée autour d'une autre blessure dont le foyer central est situé un peu plus bas.

PLANCHE VI

Tumeur médullaire de *P. zonale* provoquée par un extrait de graisse mammaire ; 64^e jour. Coupe longitudinale montrant des travées de cellules normales ou peu recloisonnées, isolées les unes des autres par des foyers tumoraux.

PLANCHE VII

Répartition des lipides dans la tige de *Pelargonium zonale*.

Fig. 1. — Globule de graisse mammaire s'infiltrant entre deux cellules dont les membranes se disjoignent.

Fig. 2. — Après 24 h, les lipides ont largement diffusé dans la moelle depuis la zone de blessure (B1) et ont déjà pénétré dans les cellules où l'on voit des amyloplastes noyés dans des masses soudanophiles. Coupe longitudinale ; graisse mammaire.

Fig. 3. — Dans certaines régions de la moelle, la diffusion des lipides n'intéresse plus des masses occupant les espaces intercellulaires, mais des globules dont la position par rapport aux membranes cellulaires laisse penser qu'ils viennent de diffuser à travers ces membranes. Cet aspect est fréquemment observé avec des acides gras purs ou lorsque les lipides sont riches en acides gras libres. Coupe longitudinale ; graisse mammaire ; 48 heures.

Fig. 4 et 5. — Les espaces intercellulaires sont envahis par la graisse et les membranes sont complètement écartées l'une de l'autre après 48 h ; on remarque dans le cytoplasme voisin des éléments soudanophiles. Coupe longitudinale ; graisse mammaire.

PLANCHE VIII

Répartition des lipides dans les cellules de *Pelargonium zonale*.

Fig. 1. — Après 48 h, les lipides ont pénétré à l'intérieur des cellules médullaires et s'y présentent sous forme d'éléments globuleux et de courts bâtonnets libres, ou bien sont fixés sur des mitochondries ainsi que dans la gaine plastidiale de certains grains d'amidon. Coupe longitudinale ; graisse mammaire.

Fig. 2. — Les lipides, après avoir traversé la membrane cellulosique, se fixent sur la membrane ectoplasmique souvent légèrement rétractée ; 5^e jour ; coupe longitudinale ; graisse mammaire.

Fig. 3. — Globules lipidiques disposés sur les ponctuations cellulosiques d'une paroi de xylème ; 15^e jour ; graisse abdominale.

Fig. 4. — Globules lipidiques insérés sous la calotte plastidiale d'un amyloplaste ; 10^e jour ; graisse abdominale.

PLANCHE IX

Localisation intranucléaire des lipides étrangers chez *P. zonale* (action de la graisse mammaire humaine).

Fig. 1. — 48 h. Fixation Morel-Dalous modifiée, action du Lugol fort 24 h., Noir Soudan avec très légère coloration de fond au carmin aluné. Granulations lipidiques libres dans l'enchylème ou fixées sur des éléments chromocentriques ; globules soudanophiles dans l'auréole périnucléolaire.

- Fig. 2. — 4^e jour. Même méthode. Lipides dans l'auréole périnucléolaire et fixés sur des éléments chromonématiques.
- Fig. 3. — Id. Fig. 2, mais sans action du Lugol.
- Fig. 4. — 48 h. Même méthode, mais sans action du Lugol. Début de prophase avec chromosomes devenus partiellement soudanophiles de même qu'une partie du nucléole.
- Fig. 5. — 5^e jour. Même méthode que pour Fig. 1. Granulations lipidiques formant un liséré presque continu autour du nucléole ; lipides libres dans l'enchylème et fixés sur les éléments chromonématiques.
- Fig. 6. — 12^e jour. Même méthode sans action du Lugol. A côté des gros globules lipidiques qui rendent un peu confuse cette prophase on observe des chromosomes nettement soudanophiles.
- Fig. 7. — Id. Fig. 6 mais après action du Lugol ; les chromosomes sont plus nettement et plus finement colorés.
- Fig. 8. — 10^e jour. Même méthode que pour Fig. 1. Forte coloration des chromocentres par le Noir Soudan. On voit par ailleurs des globules soudanophiles accolés au nucléole.
- Fig. 9. — 28^e jour. Même méthode que pour Fig. 1. On distingue mieux que dans la figure précédente les globules lipidiques accolés au nucléole ; on remarque en outre la présence de deux globules intranucléolaires.
- Remarque sur cette Planche : Il n'est pas possible de montrer des témoins qui ne présentent aucune coloration due au Noir Soudan, que cette coloration ait été précédée ou non d'une action du Lugol. Ces noyaux ne peuvent être photographiés dans les mêmes conditions que les figures de cette Planche en raison de l'absence complète de contraste.

PLANCHE X

Caryologie des tumeurs médullaires chez *Pelargonium zonale*. Action de la graisse d'épithélioma mammaire, sauf pour les fig. 12 et 22.

- Fig. 1. — Noyau normal de la moelle, un nucléole, une quinzaine de chromocentres nets.
- Fig. 2. — Noyau à nucléole volumineux, cellule non recloisonnée ; hématox. ferrique.
- Fig. 3. — Noyau à deux nucléoles ; cellule non recloisonnée ; hématox. ferrique.
- Fig. 4. — Noyau à trois nucléoles ; cellule non recloisonnée ; hématox. ferrique.
- Fig. 5. — Cellule non recloisonnée ; noyau à un nucléole volumineux présentant une caverne centrale ; chromocentres nombreux ; augmentation du volume nucléaire. Feulgen.
- Fig. 6. — Cellule non recloisonnée : chromocentres nombreux, avec apparition d'éléments chromonématiques très courts, un nucléole normal. Feulgen.
- Fig. 7. — Cellule non recloisonnée : noyau volumineux à un nucléole normal ; éléments chromonématiques terminés par des renflements chromocentriques et souvent associés par paires. Feulgen.
- Fig. 8. — Cellule non recloisonnée : noyau plus petit où apparaît nettement la duplication des éléments chromonématiques ; hématoxyline ferrique.
- Fig. 9. — Cellule non recloisonnée : noyau volumineux avec nombreux chromocentres ponctiformes. Feulgen.
- Fig. 10. — Cellule non recloisonnée : prophase endomitotique à chromatides composées de deux chromosomes clivés. Feulgen.
- Fig. 11. — Région hyperplasiée : noyau à 10 nucléoles environ. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 12. — Région hyperplasiée : noyau hautement polyploïde. Hématoxyline ferrique ; action d'un extrait lipidique de sérum humain.
- Fig. 13. — Cellule non divisée de la périphérie de la tumeur ; 56^e jour ; noyau volumineux à 2-3 nucléoles ; environ 80 chromocentres. Feulgen.

- Fig. 14. — Id. mais noyau à 9 nucléoles ; hématoxyline ferrique.
- Fig. 15. — Début de télophase à chromosomes retardataires formant un pont entre les deux groupes de chromosomes ; 32^e jour ; région hyperplasiée. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 16. — Région hyperplasiée : noyaux télophasiques accolés, 32^e jour ; Feulgen.
- Fig. 17. — Région hyperplasiée : noyaux accolés de petite taille ; disposition symétrique des nucléoles de part et d'autre de la ligne de jonction ; 32^e jour. Feulgen.
- Fig. 18. — Région hyperplasiée : noyaux soudés, encastrés l'un dans l'autre ; un seul nucléole visible nettement ; 23^e jour. Feulgen.
- Fig. 19. — Région hyperplasiée : noyaux accolés, 12^e jour. Feulgen.
- Fig. 20. — Cellule non encore recloisonnée : noyaux soudés après télophase montrant une disposition symétrique des nucléoles de part et d'autre de la ligne de jonction ; absence de fonctionnement du phragmoplaste. 30^e jour. Hém. ferr.
- Fig. 21. — Cellule non recloisonnée : noyau hautement polyploïde formé par l'accolement de deux masses nucléaires volumineuses, à nombreux chromocentres, sans fonctionnement du phragmoplaste. 60^e jour. Feulgen.
- Fig. 22. — Région hyperplasiée : noyau devenu hautement polyploïde ; 30^e jour ; action de l'huile de lin. Feulgen.

PLANCHE XI

Fonctionnement du phragmoplaste dans les tumeurs médullaires de *Pelargonium zonale* provoquées par une graisse d'épithélioma mammaire ; 25^e-30^e jours.

- Fig. 1. — Noyaux très rapprochés, presque accolés. Une membrane très bien formée s'insère entre les noyaux, mais la séparation demeure inachevée. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 2. — Noyaux accolés ; la membrane, incomplète, rejoint la paroi de la cellule. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 3. — Noyau volumineux encastré dans une membrane bifide. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 4. — Noyau prophasique relié à une paroi par une membrane incomplète, Feulgen.

PLANCHE XII

Réactions médullaires provoquées chez *Ricinus sanguineus* par la graisse d'épithélioma mammaire appliquée sur des blessures.

- Fig. 1. — Coupe longitudinale, 9^e jour. Hématoxyline ferrique. On remarque les deux nodules hyperplasiques qui obstruent déjà partiellement la cavité médullaire et qui se trouvent enchâssés dans une boursofflure parenchymateuse provenant du recloisonnement des cellules médullaires.
- Fig. 2. — Noyau normal : un nucléole, 7-8 chromocentres collectifs nets ; plastes accolés à la partie supérieure du noyau. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 3. — Tumeur médullaire 13^e jour ; noyau à 4 nucléoles et à nombreux chromocentres dans une cellule recloisonnée. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 4. — Noyau polyploïde à un nucléole volumineux ; répartition irrégulière de masses chromatiques ; 13^e jour. Hématoxyline ferrique.
- Fig. 5. — Noyaux accolés ; disposition symétrique des nucléoles ; 13^e jour. Feulgen.
- Fig. 6. — Début de prophase chez deux noyaux accolés ; le nucléole volumineux semble résulter de la fusion de deux nucléoles. Hématoxyline ferrique. 13^e jour.

- Fig. 7. — Deux noyaux accolés dont un seul présente un nucléole visible ; nombreux chromocentres. 13^e jour. Hématoxyline ferrique.
 Fig. 8. — Noyau polylobé à cinq nucléoles visibles, nombreux chromocentres ; 17^e jour. Feulgen.

PLANCHE XIII

Anatomie des réactions corticales de *Ricinus sanguineus*, à la suite d'injection de lipides dans la cavité médullaire.

- Fig. 1. — Coupe longitudinale montrant la répartition des lipides dans une verrucosité au 120^e jour. Les assises externes subérifiées renferment des masses entièrement colorées par le Noir Soudan. Dans les assises internes, les lipides sont mis en évidence, surtout dans les méats et les espaces intercellulaires ; aspect typique de lenticelle.
 Fig. 2. — Coupe transversale au 120^e jour. La verrucosité a provoqué l'éclatement de l'épiderme et du collenchyme ; la saillie tissulaire est composée uniquement de cellules du parenchyme cortical hyperplasié ; certaines cellules externes non subérifiées sont en voie de desquamation.
 Fig. 3. — Coupe transversale au 30^e jour, après injection d'huile de colza raffinée. On remarque l'importante hypertrophie de l'assise sous-épidermique qui n'a pas été suivie de recloisonnements. Noir Soudan - Carmin aluné.
 Fig. 4. — Coupe transversale au 53^e jour après injection d'huile de colza raffinée. Certaines cellules du collenchyme subissent une hypertrophie importante. Noir Soudan - Carmin aluné.

PLANCHE XIV

Répartition des lipides dans la tige de *Ricinus sanguineus* après injection dans la cavité médullaire. Translocation horizontale.

- Fig. 1. — Hyperplasie corticale provoquée par l'injection d'une graisse d'épithélioma mammaire dans la cavité centrale. On voit que le processus hyperplasique n'atteint que le parenchyme cortical où les lipides se sont accumulés. 60^e jour. Noir Soudan.
 Fig. 2. — Graisse abdominale humaine ; 120^e jour. Répartition des lipides contre les parois du xylème primaire, ainsi que dans les parois des cellules du parenchyme vasculaire. Coupe transversale.
 Fig. 3. — Graisse mammaire, 90^e jour. Répartition très régulière des globules lipidiques dans les parois du xylème primaire, ainsi que dans les méats du parenchyme médullaire. Coupe transversale.
 Fig. 4. — Gouttelettes lipidiques dans les ponctuations d'un vaisseau de bois. 180^e jour. Noir Soudan. Coupe longitudinale.

PLANCHE XV

Répartition des lipides dans la tige de *Ricinus sanguineus* après injection dans la cavité médullaire. Translocation horizontale.

- Fig. 1. — Translocation horizontale d'une huile d'olive ; 53^e jour. Coupe transversale. On remarque que l'huile ponctue les méats de la moelle, alors qu'elle obstrue complètement certains vaisseaux. Elle passe dans l'écorce par des files radiales qui semblent correspondre aux « rayons médullaires » dont les parois sont entièrement soudanophiles. Les flots libériens sont dépourvus de lipides alors que les cellules corticales en renferment abondamment. Noir Soudan.

- Fig. 2. — Coupe transversale au 53^e jour montrant en détail le xylème primaire et les cellules médullaires voisines; obstruction des espaces intercellulaires de la moelle et de certains vaisseaux. Huile d'olive; Noir Soudan.
- Fig. 3. — Coupe longitudinale montrant la localisation intercellulaire des lipides dans la moelle six mois après l'injection de graisse mammaire dans la cavité centrale. Noir Soudan.
- Fig. 4. — Détail de la répartition des lipides entre les membranes des cellules médullaires. Noir Soudan.

PLANCHE XVI

- Fig. 1. — Coupe transversale dans une tige de *Ricinus sanguineus* après injection d'huile d'arachide dans le canal médullaire; 90^e jour; coloration Noir Soudan. Sous les verrucosités éclatées, on observe une importante hyperplasie corticale; le collenchyme est écrasé; le xylème secondaire légèrement épaissi d'un côté; les cellules médullaires bordant la cavité centrale très fortement hypertrophiées.
- Fig. 2. — Tumeur médullaire de *Pelargonium zonale* provoquée par une graisse d'épithélioma mammaire; au 60^e jour, inoculation d'*Agrobacterium tumefaciens*. Les bactéries s'infiltrèrent dans les espaces intercellulaires du parenchyme hyperplasié et atteignent ainsi le parenchyme non recloisonné. On voit nettement au 90^e jour les espaces intercellulaires colorés de manière continue par le Feulgen, établissant le trajet suivi par les bactéries à travers la tumeur médullaire où elles ne provoquent aucune modification.

PLANCHE XVII

Injection d'huiles dans le canal médullaire de *Ricinus sanguineus*.

- Fig. 1. — Injection d'une huile de foie de morue extra-pâle; 60^e jour; Noir Soudan. On note une hyperplasie intense de la moelle avec comblement presque complet du canal médullaire et une hyperactivation cambiale avec différenciation de xylème secondaire, à l'exception d'un quadrant supérieur qui est demeuré normal. Hyperplasie corticale près de la blessure; en dehors de cette zone l'écorce est normale, et les verrucosités exceptionnelles.
- Fig. 2. — Injection d'une huile de tournesol; 50^e jour; Noir Soudan. La moelle ne réagit aucunement. Par contre, l'écorce subit des phénomènes d'hypertrophie cellulaire particulièrement nets à gauche, entraînant des déformations du contour de la tige; les verrucosités, petites, sont rares. On relève surtout l'important accroissement à droite de la région vasculaire.

PLANCHE XVIII

Action d'une graisse d'épithélioma mammaire sur le bourgeon terminal de *Ricinus sanguineus*. 77^e jour; coloration bleu de méthylène aluné - rouge de ruthénium. On remarque non seulement l'épaississement des enveloppes foliaires, mais surtout l'hyperplasie intense dont elles sont le siège avec formation de verrucosités très nettes à gauche (V), et la néoformation à droite d'un bourgeon secondaire également entouré de tissus hyperplasiés. La moelle et la région procambiale n'ont subi aucune modification.

PLANCHE XIX

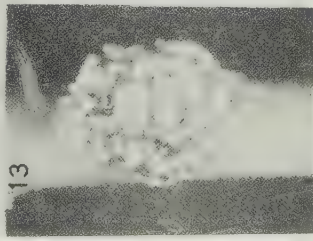
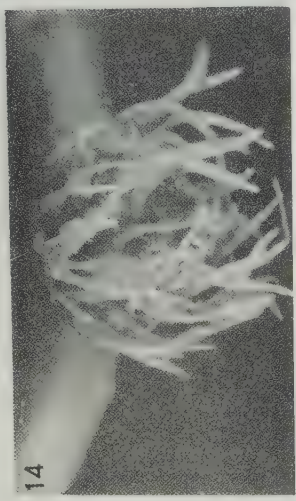
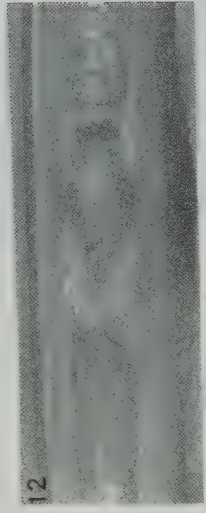
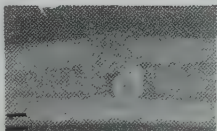
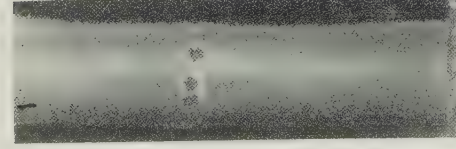
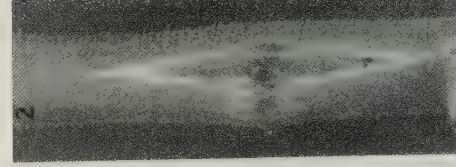
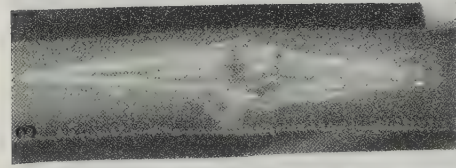
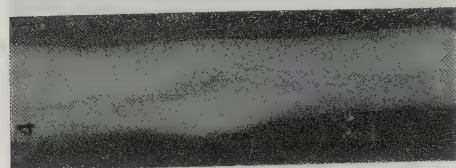
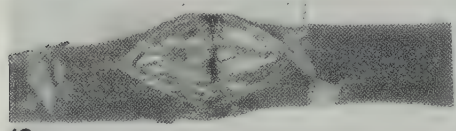
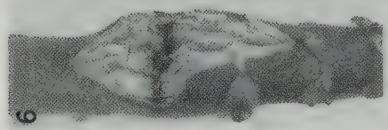
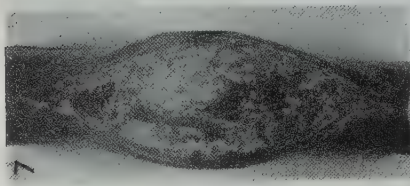
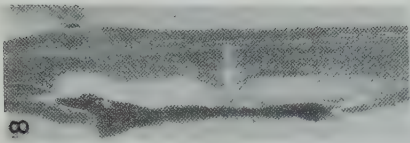
Trajet ascensionnel des lipides chez le *Pelargonium* et le Ricin.

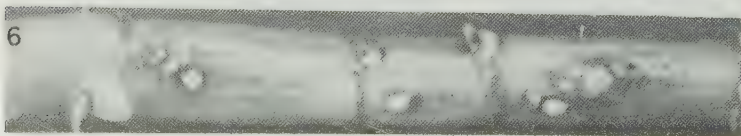
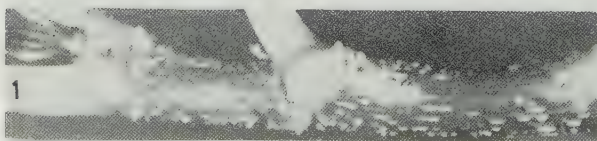
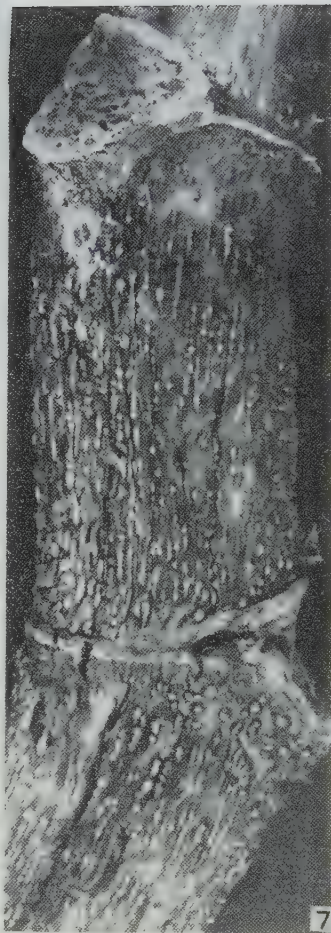
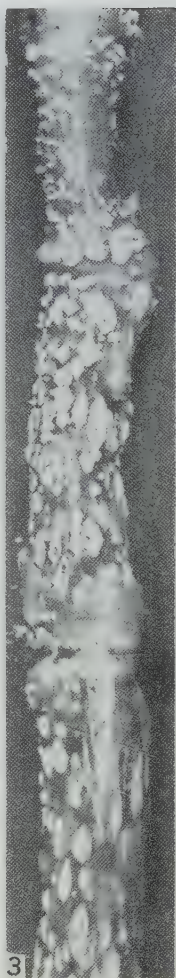
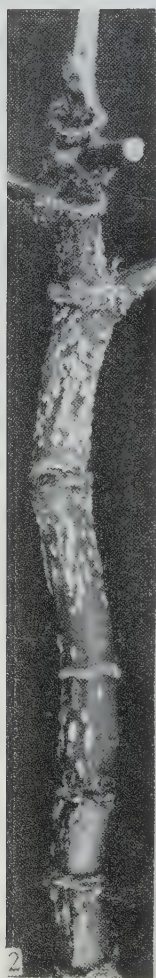
- Fig. 1. — Blessures dans les 3^e et 5^e entrenœuds sous-apicaux chez *Pelargonium zonale*, suivies d'apposition d'une goutte de graisse mammaire saturée de Noir Soudan. Au 7^e jour, les sommités caulinaires sont atteintes, de même que l'aiselle des pétioles aux nœuds inférieurs.
- Fig. 2. — Id., image montrant le détail de l'envahissement de l'apex au 7^e jour : les enveloppes foliaires du bourgeon terminal sont entièrement colorées en bleu foncé.
- Fig. 3. — Apex normal de *Ricinus sanguineus* : les enveloppes foliaires de l'apex sont verticales et lisses.
- Fig. 4. — Développement normal d'une tige de *Ricinus sanguineus* après injection d'huile d'arachide. Au 4^e mois (expérimentation en serre), les sommités caulinaires n'ont pas été atteintes et n'ont subi aucune déformation.
- Fig. 5. — Apex d'un Ricin ayant subi des déformations provoquées par l'injection d'huile d'arachide dans les entrenœuds inférieurs. L'huile a gagné les sommités caulinaires et a provoqué des malformations des ébauches. 4^e mois. (Expérimentation en serre.)
- Fig. 6. — Feuille voisine des sommités caulinaires chez un Ricin ayant subi également une injection d'huile d'arachide dans les cavités médullaires de la tige. 4^e mois. Expérimentation en serre. La feuille est déformée, les nervures dentelées et épaissies.

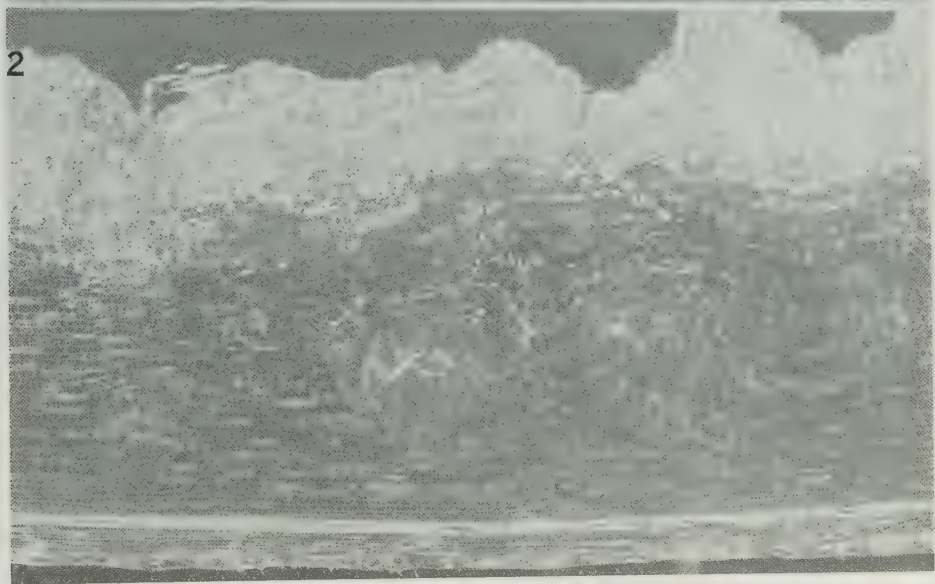
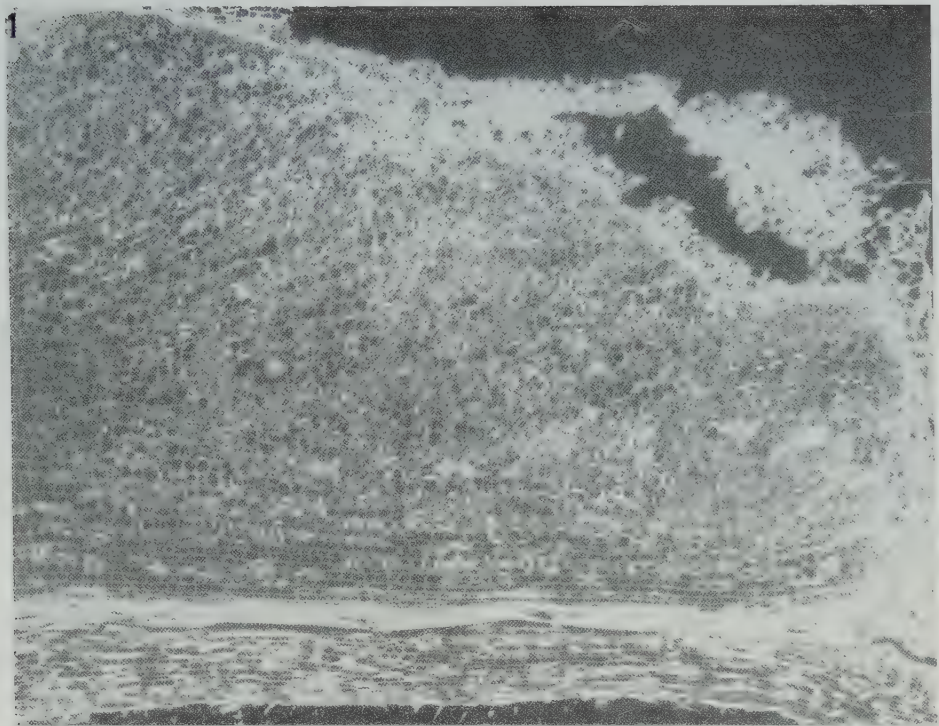
PLANCHE XX

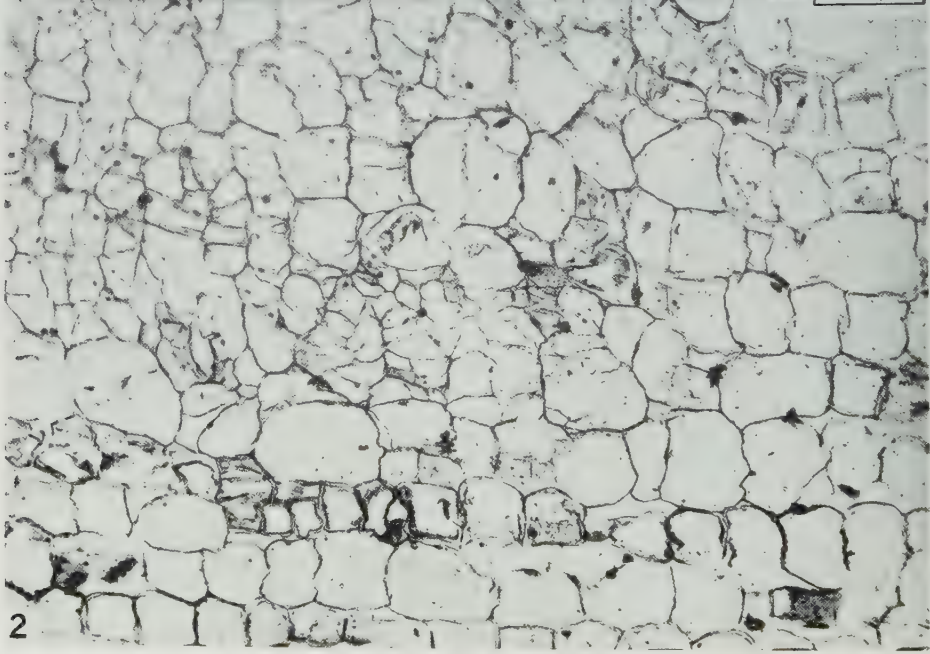
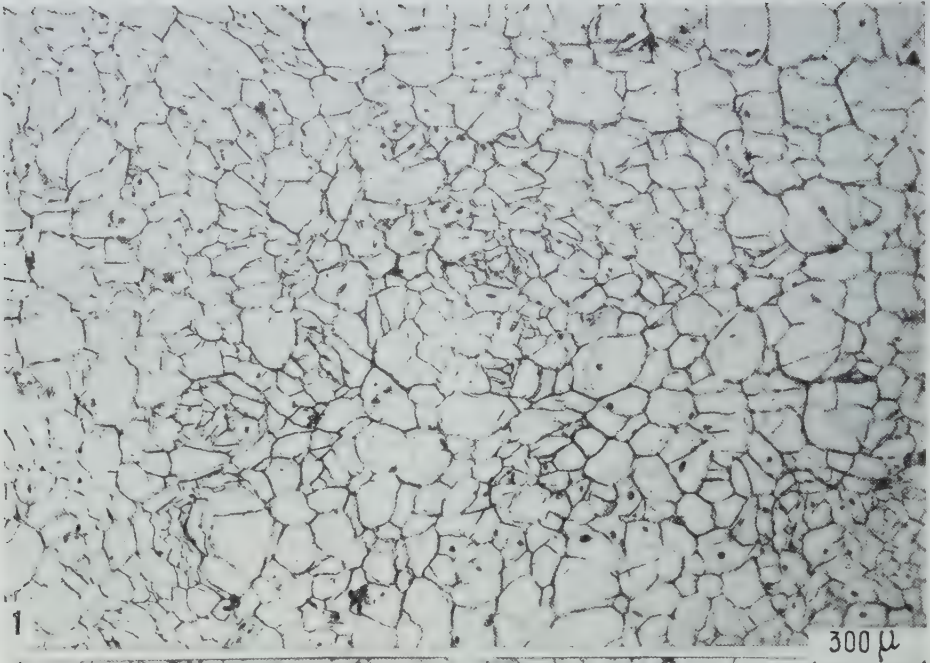
Absorption des lipides par les racines chez *Lupinus albus*.

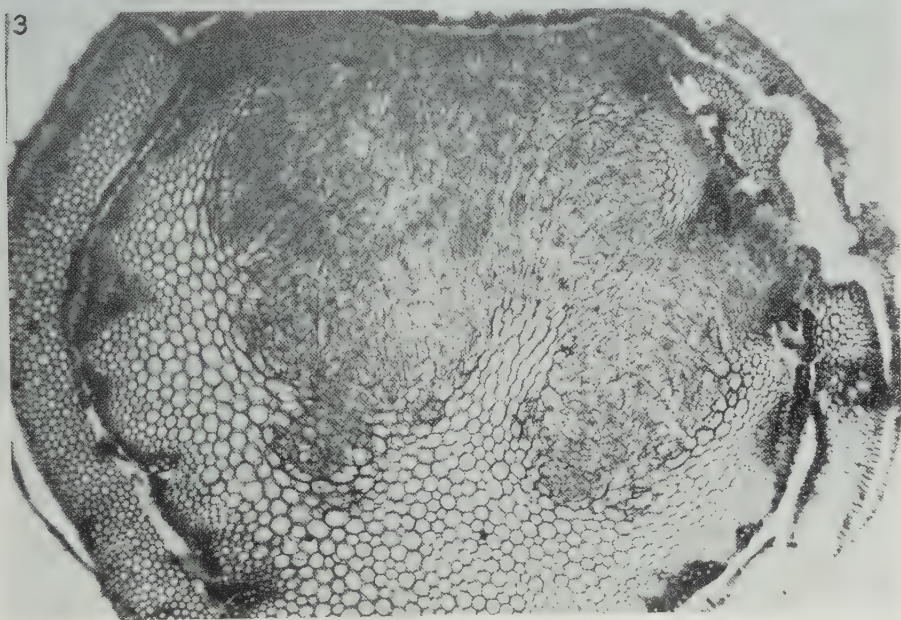
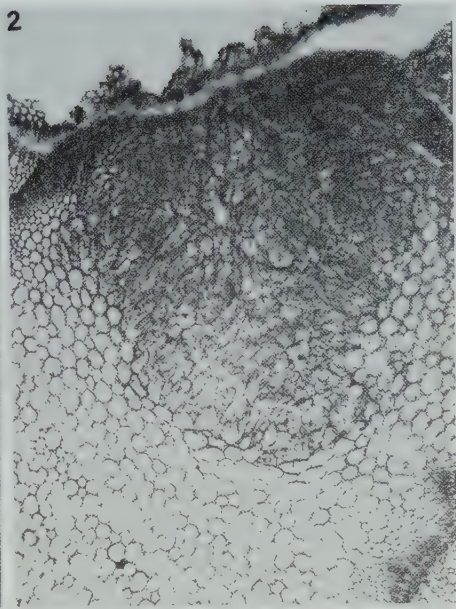
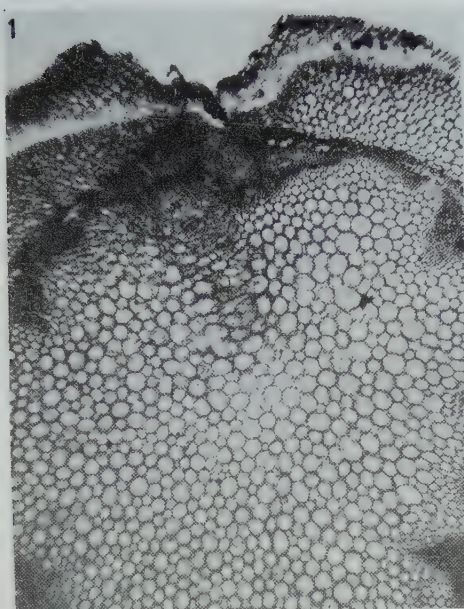
- Fig. 1. — Coupe transversale dans la région basse de l'hypocotyle ; 10^e jour. L'écorce et la moelle sont ponctuées de lipides (émulsion d'huile de coton à 0,3 % dans l'eau) localisés dans les espaces intercellulaires et les méats. Noir Soudan.
- Fig. 2. — Id., coupe transversale dans la région haute du même hypocotyle. L'huile est répartie d'une part dans la région épidermique et sous-épidermique, d'autre part dans la région interne de l'écorce, de l'endoderme et du péricycle, où l'on note une pénétration intracellulaire. Noir Soudan.
- Fig. 3 et 4. — Globules et masses lipidiques dans les vaisseaux du bois ; région centrale de la racine, zone des radicules. 10^e jour dans une émulsion de graisse abdominale à 0,1 % dans l'eau. Noir Soudan.

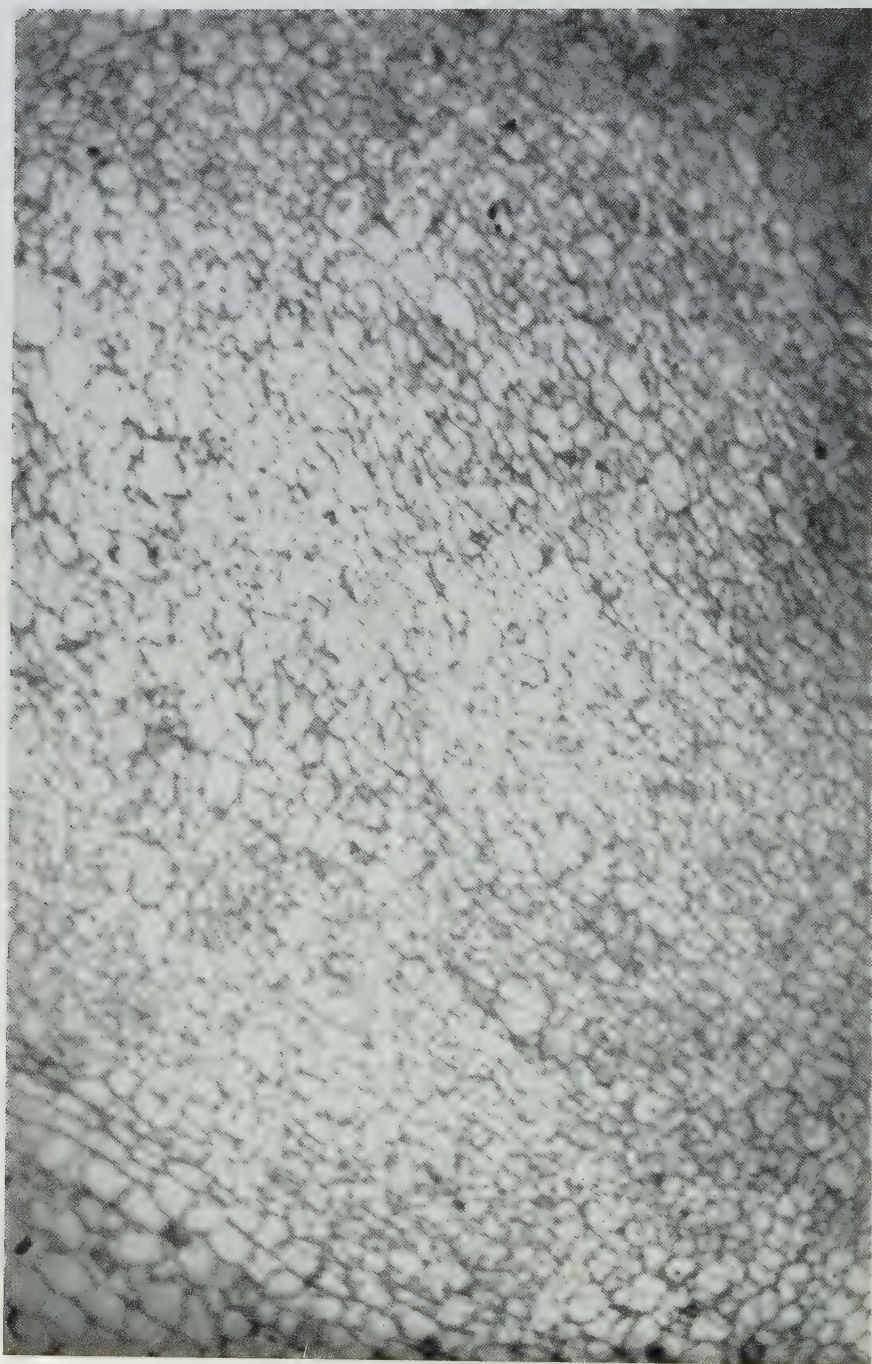


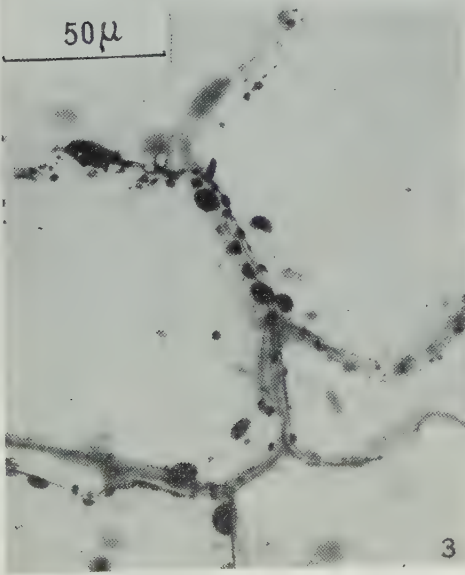
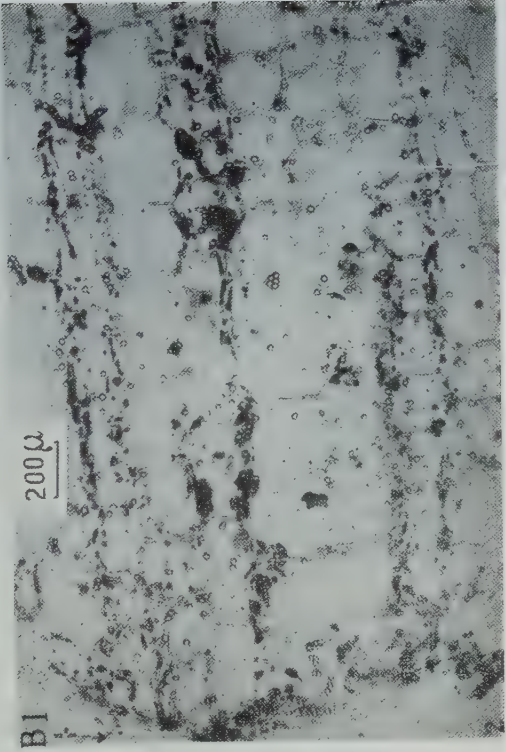
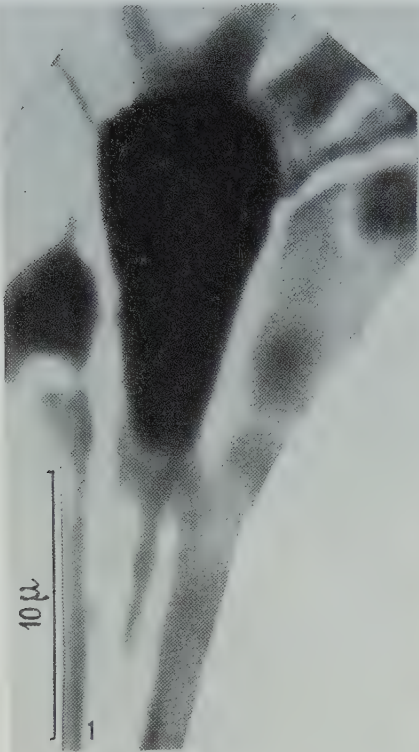


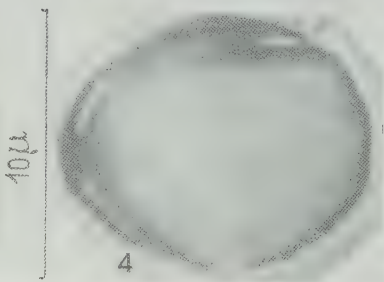
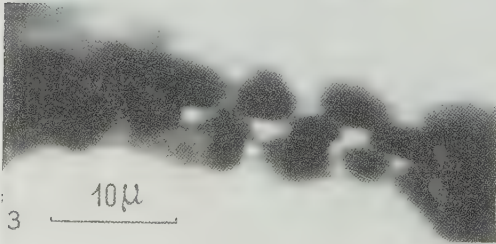
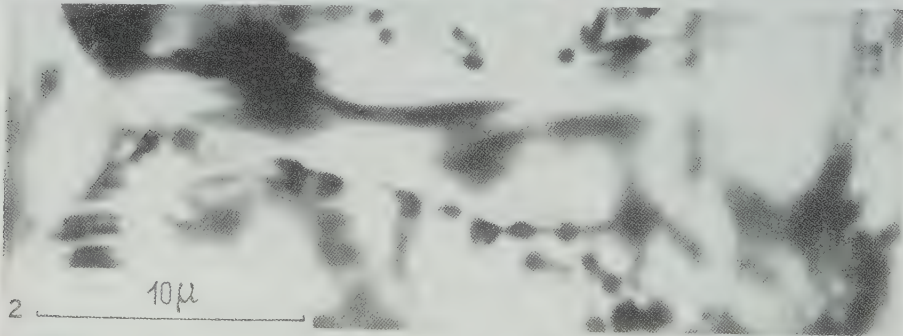
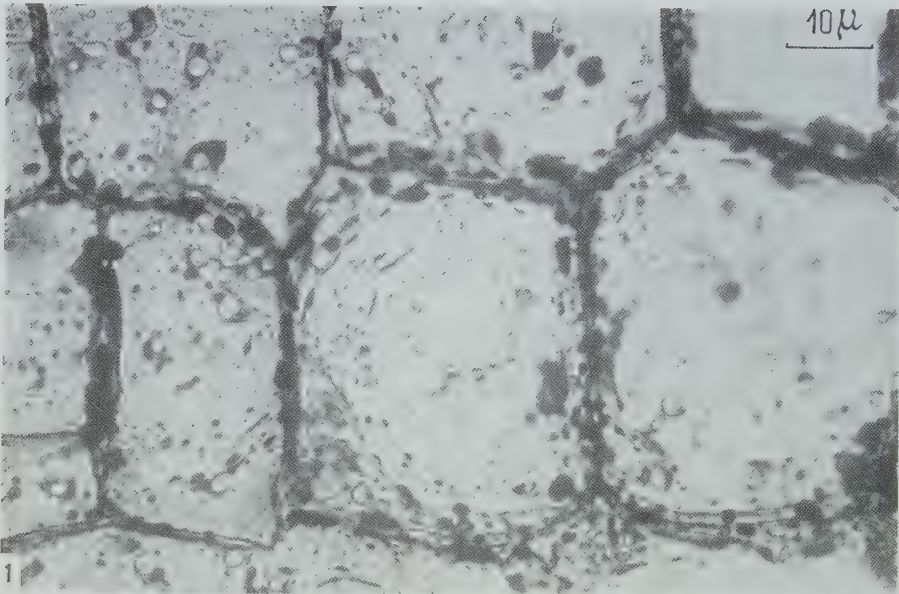


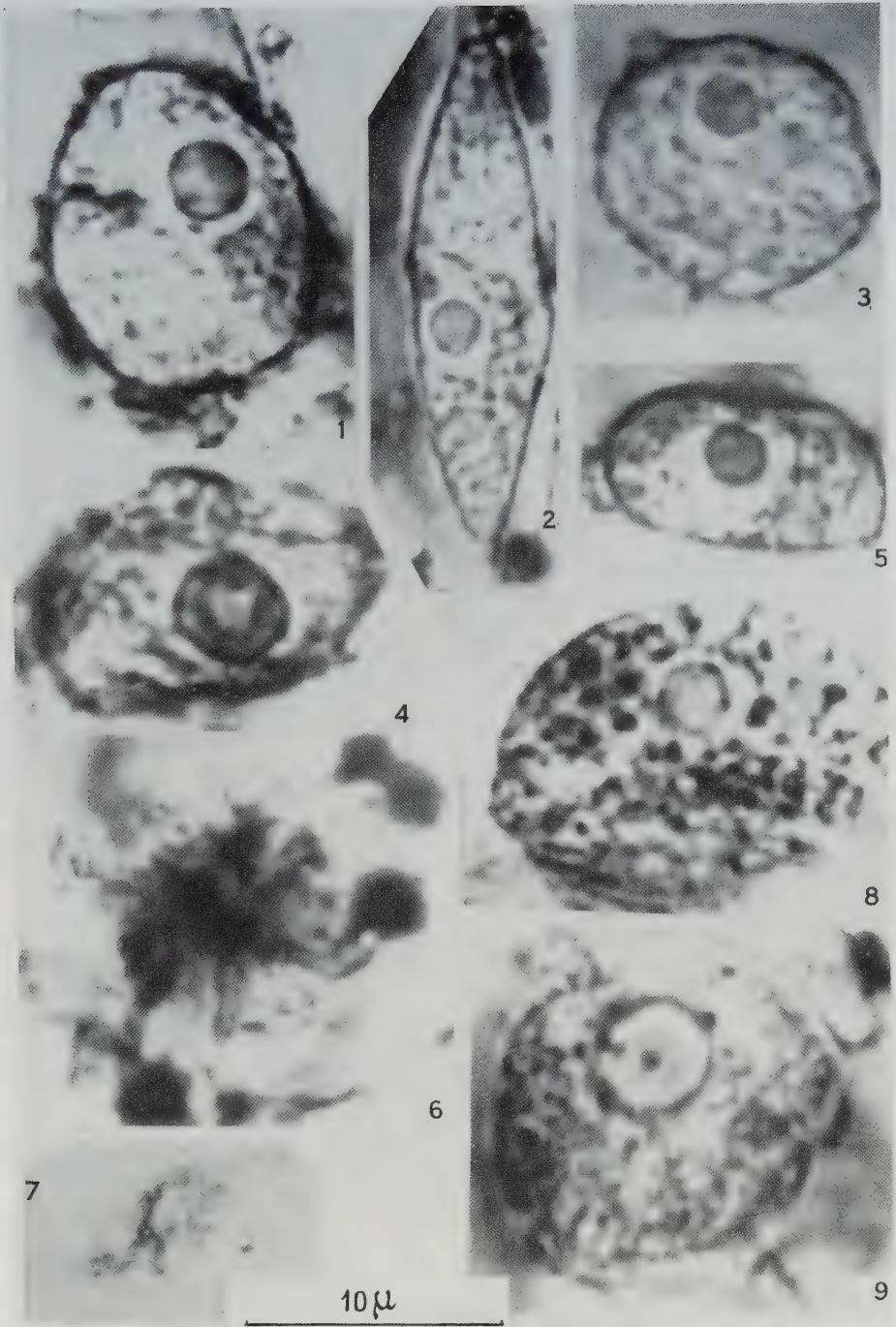


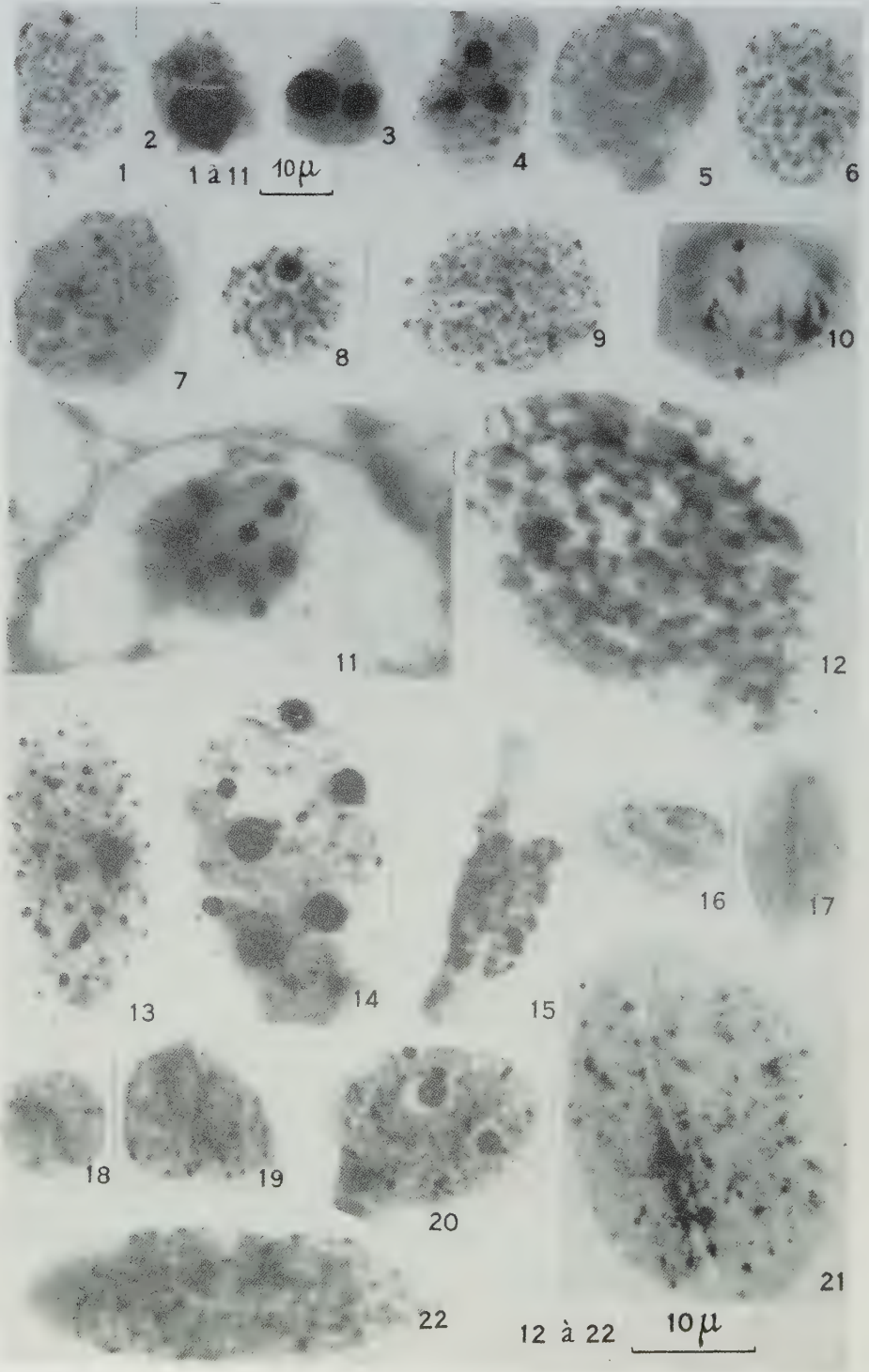


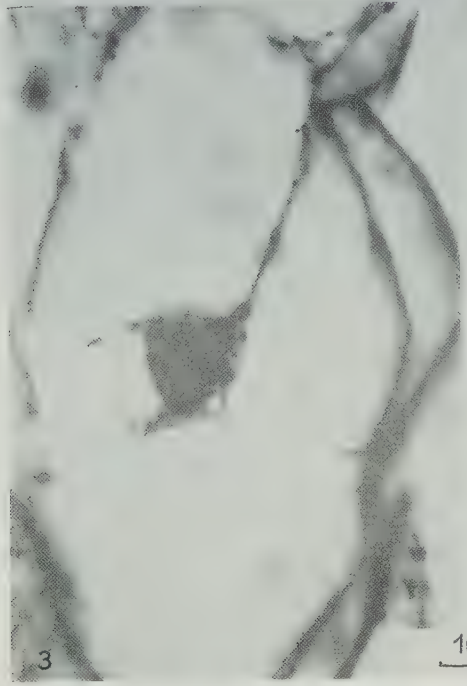
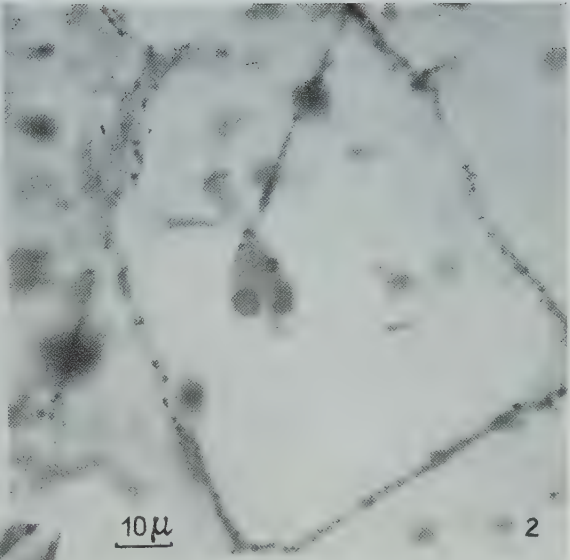
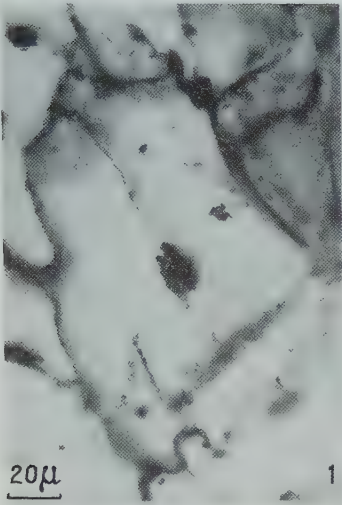


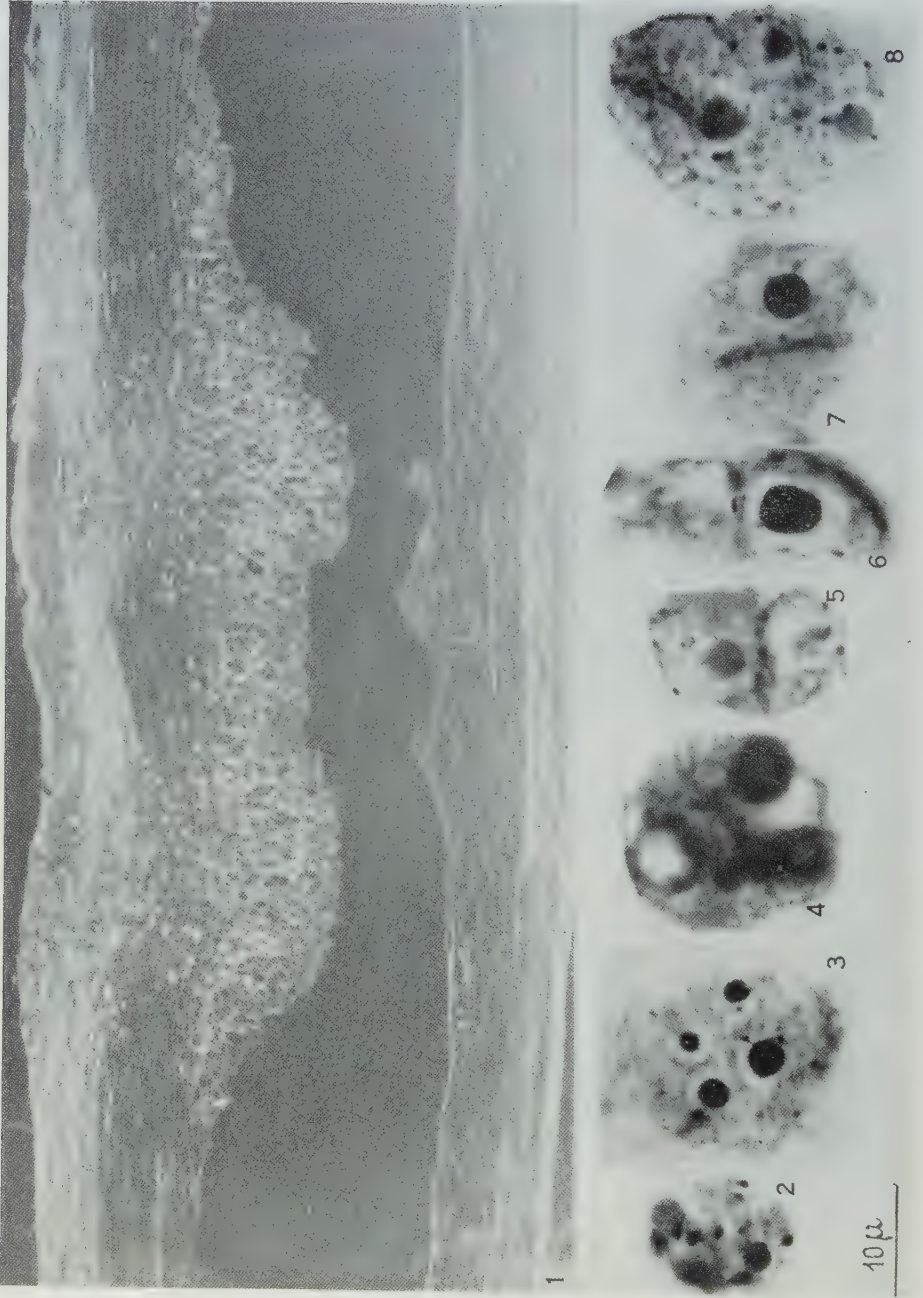


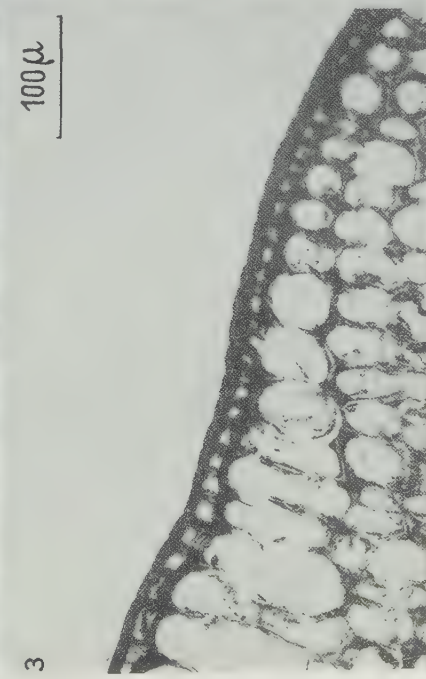
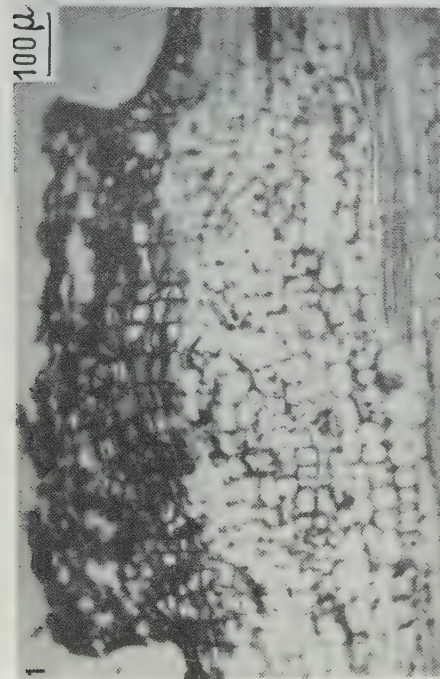
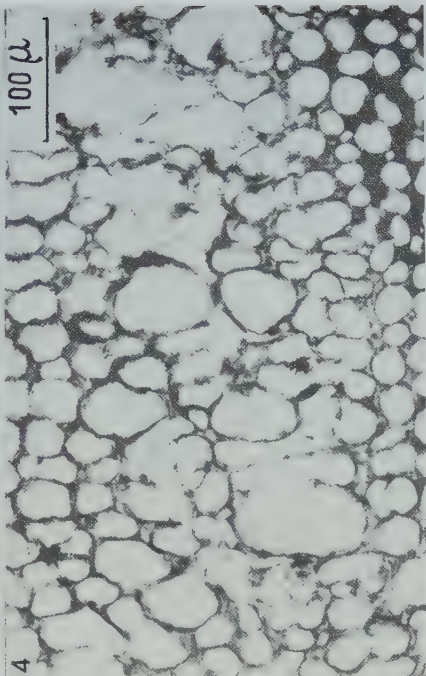
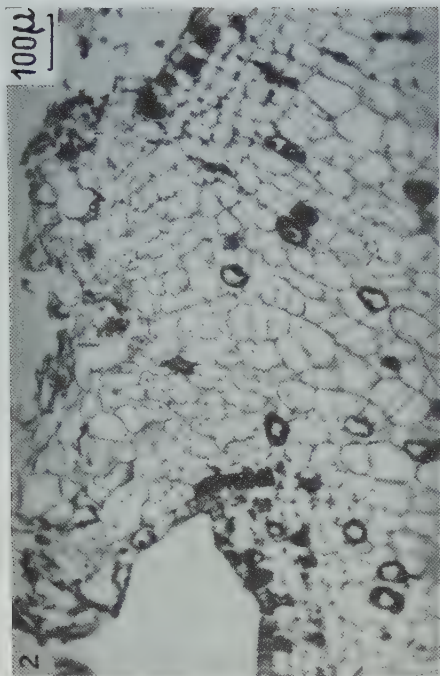


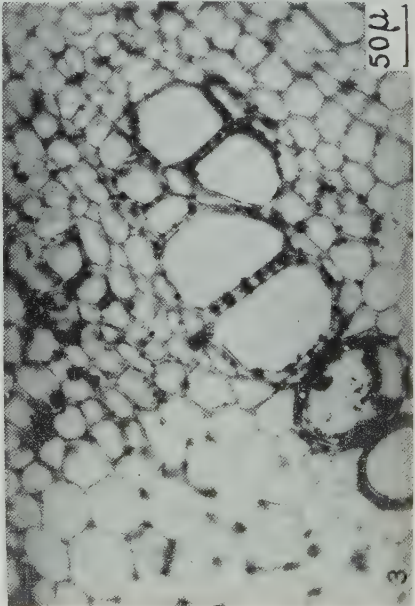
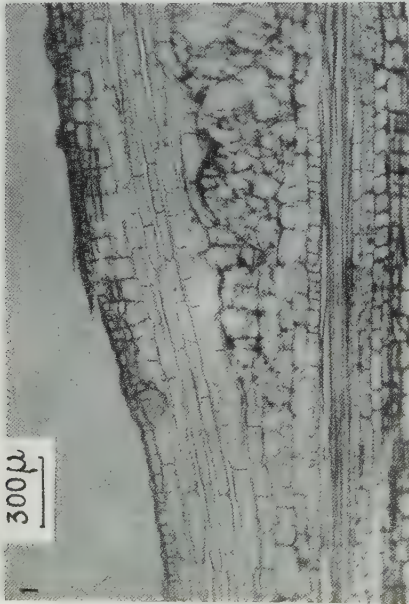
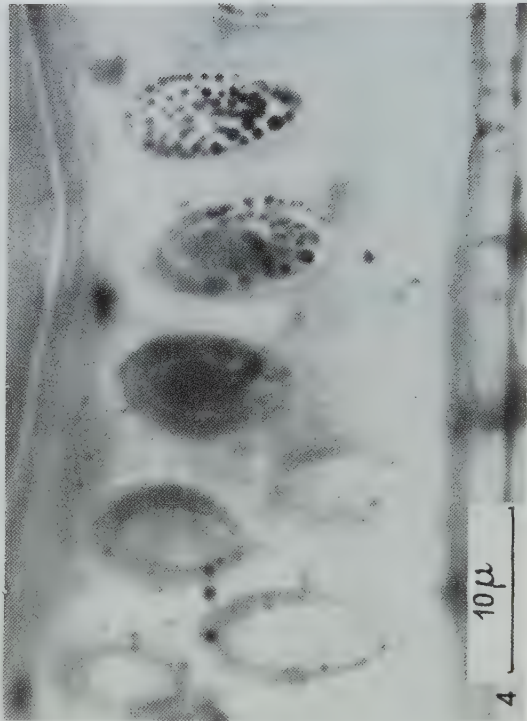
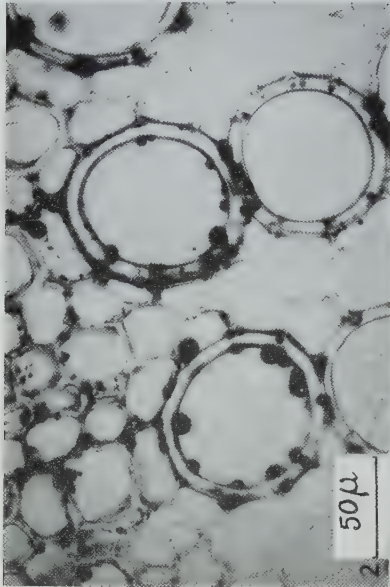




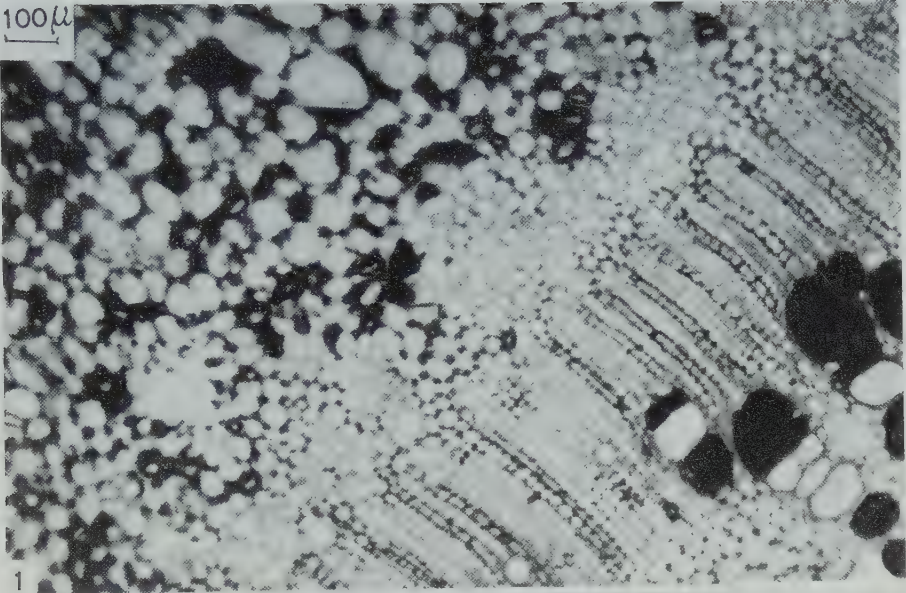




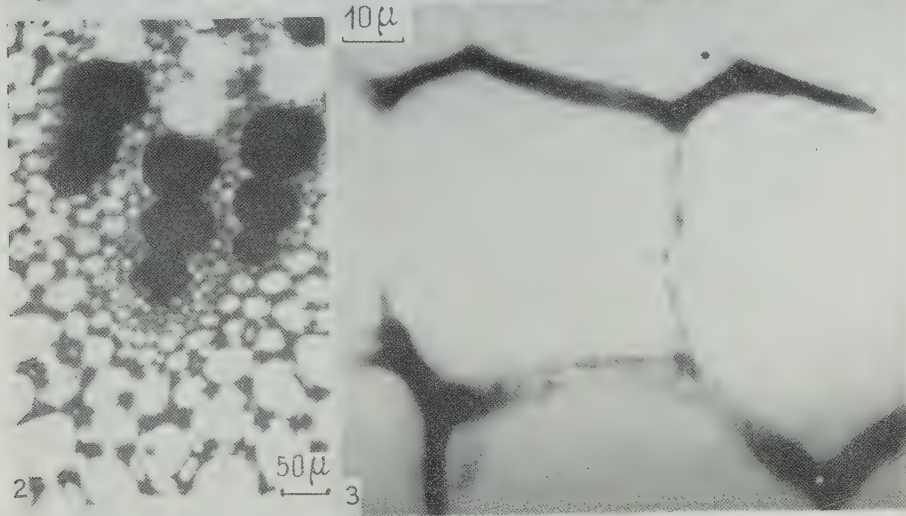




100 μ

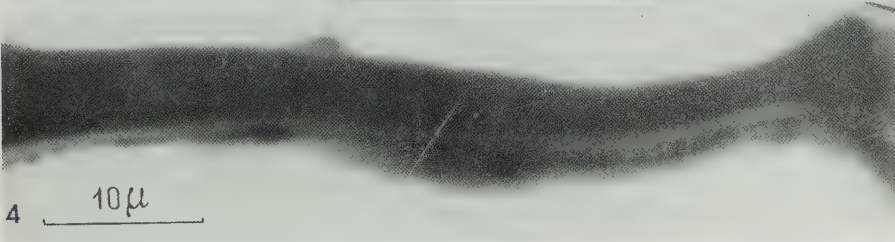


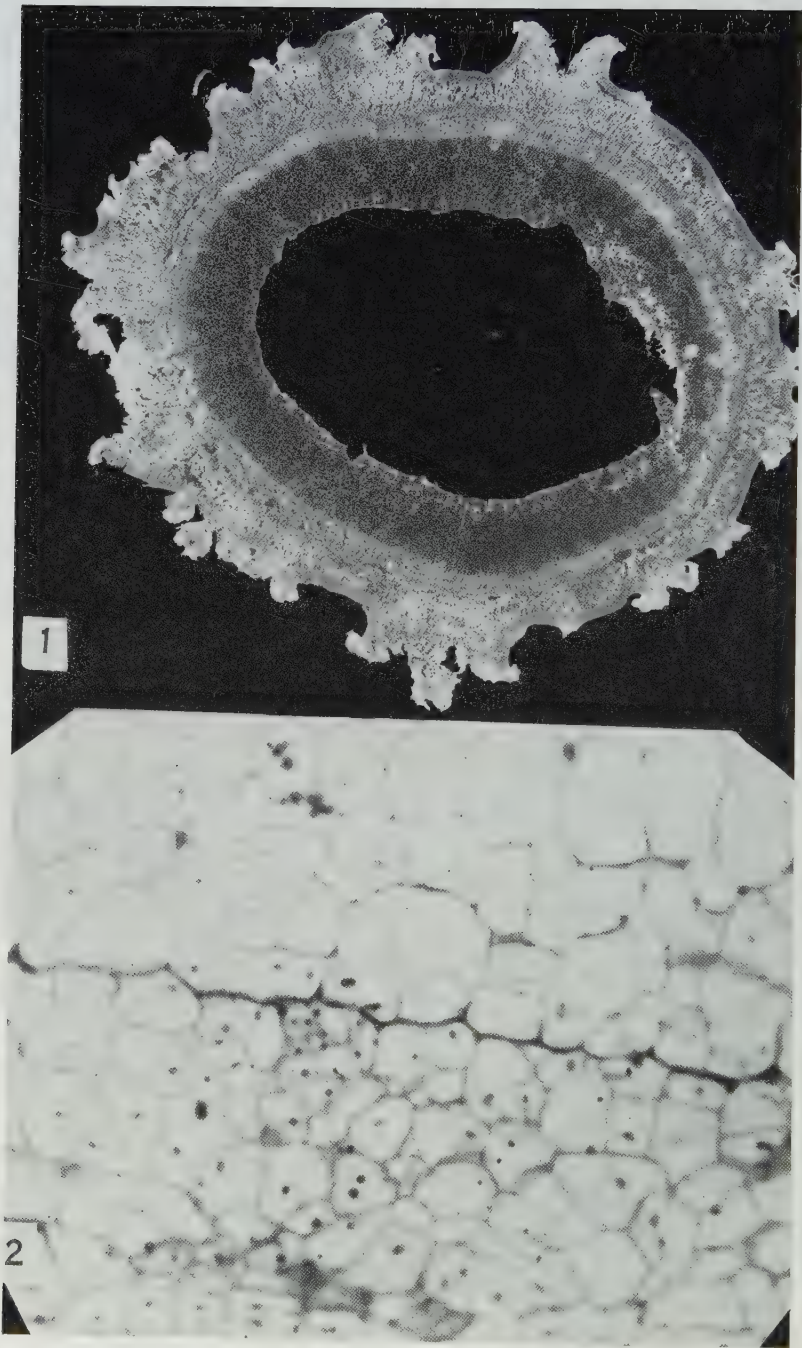
10 μ

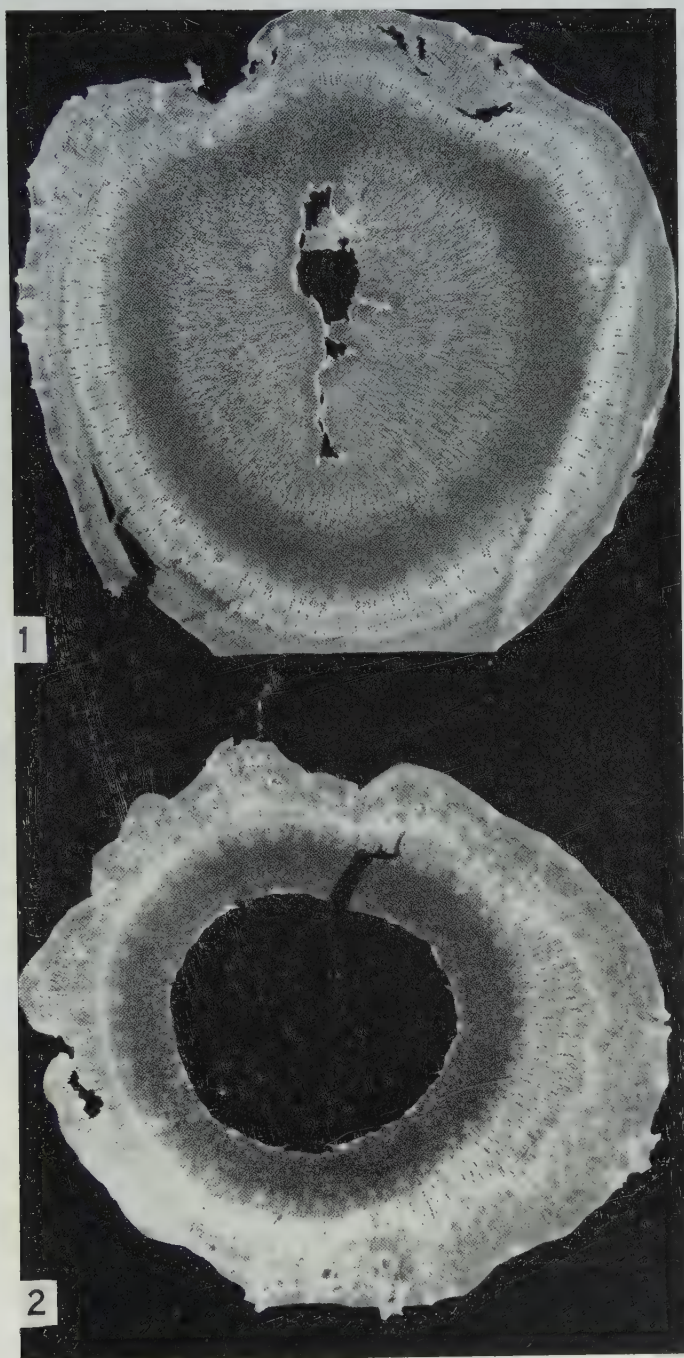


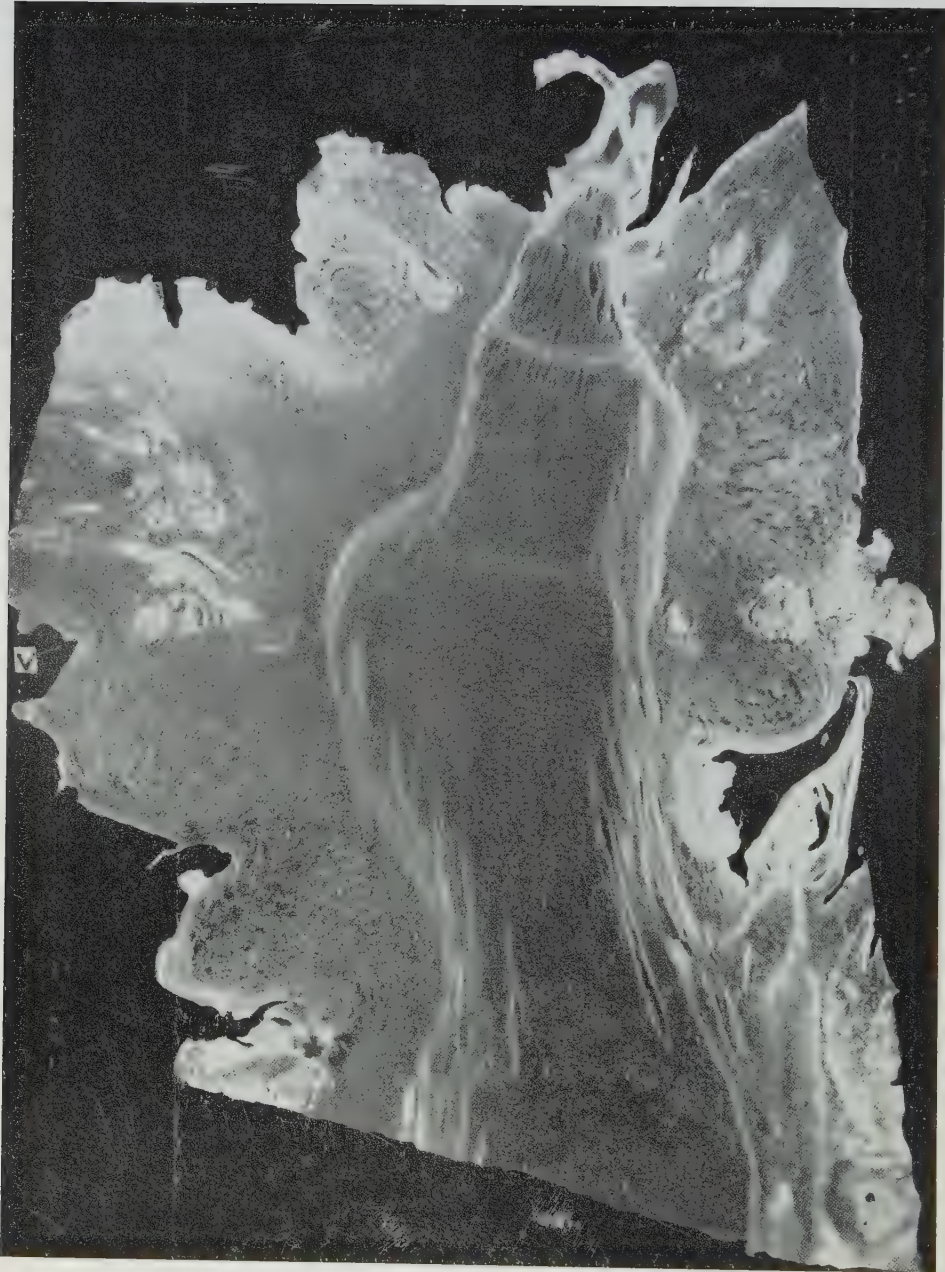
50 μ

3

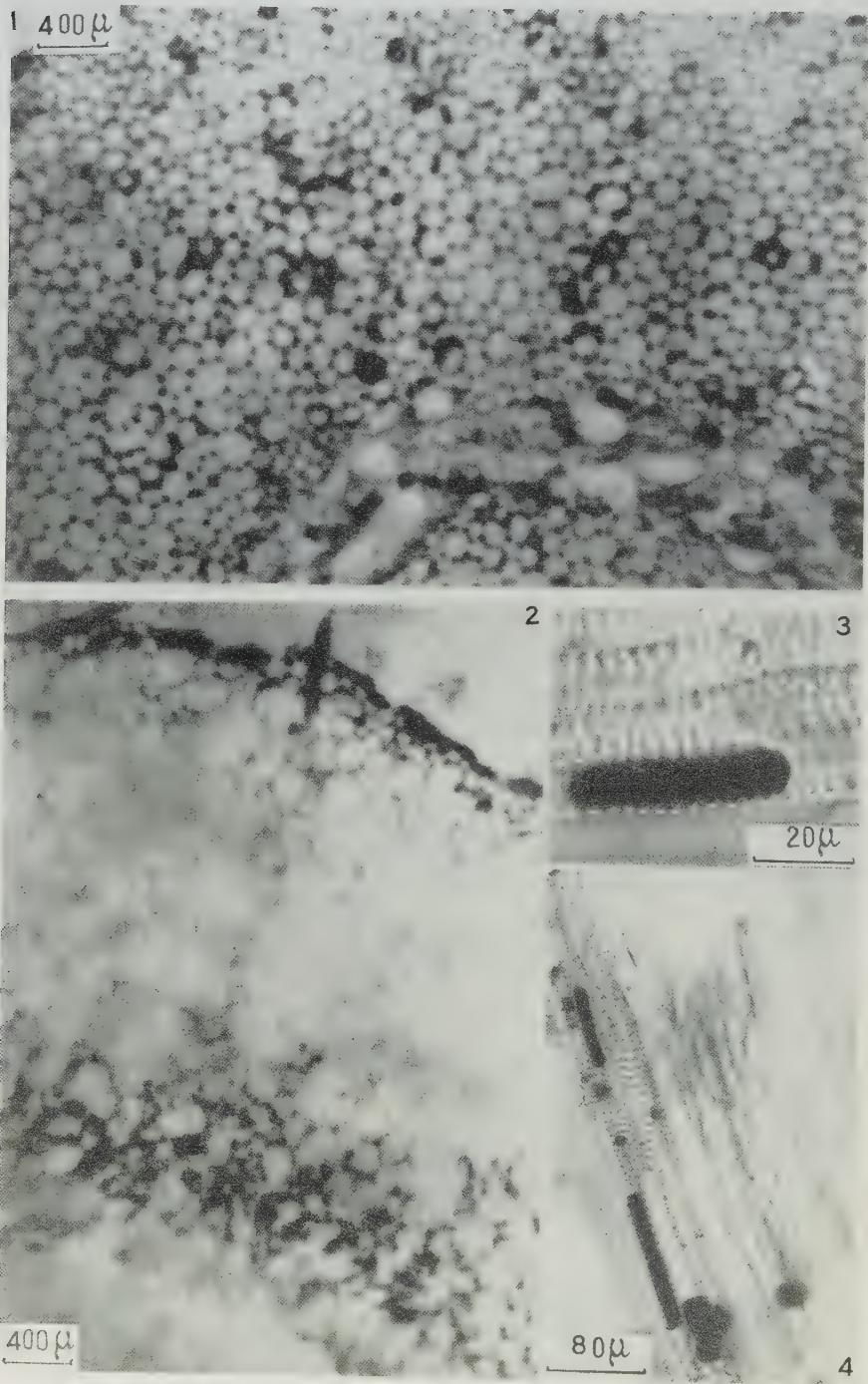












DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LES GIBBÉRELLINES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 16 Octobre 1960.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH

